DENISA MIHELE

BIOCHIMIE CLINICĂ

EDIŢIA A II-A

editura medicală

Această carte a apărut cu sprijinul:
FUNDAȚIA SPITALULUI DE URGENȚĂ

„Toate drepturile editoriale aparțin în exclusivitate Editurii Medicale. Publicația este marcă înregistrată a Editurii Medicale, fiind protejată integral de legislația internă și internațională. Orice valorificare a conținutului în afara limitelor acestor legi și a permisiunii editorilor este interzisă și posibilă de pedeapsă. Acest lucru este valabil pentru orice reproducere - integrală sau parțială, indiferent de mijloace (multiplicări, traduceri, microfilmări, transcrieri pe dischete etc.)".

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României
DENISA MIHELE
Biochimie clinică/Denisa Mihele - Ediția a II-a, revizuită și adăugită – București: Editura Medicală, 2006
Bibliografie

ISBN (10) 973-39-0569-0; ISBN (13) 978-973-39-0569-1

577.1:616(075.8)

Tehnoredactor: **MIHAI ȘTEFĂNACHE**
Secretar de redacție: **MARIA-ELENA NEAMȚ**

Prof. Univ. Dr. **DENISA MIHELE**
UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE
„CAROL DAVILA" BUCUREŞTI

BIOCHIMIE CLINICĂ

EDIŢIA A II-A
Revizuită şi adăugită

COAUTOR: **Asist. Univ. Dr. DANA MIHELE**

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE
BIBLIOTECA NR. 2 CLINIC
Nr. de inventar: 10.196
Cotă: W 39.766
CRAIOVA

EDITURA MEDICALĂ
BUCUREŞTI 2010

PREFAȚĂ

Progresele înregistrate în ultimii ani în domeniul patologiei biochimice, impune o revizuire a cunoştinţelor şi o permanentă completare. Domeniul este supus uzurii morale datorită progresului rapid înregistrat, practic, prin dezvotarea remarcabilă şi introducerea de tehnici noi şi aparatură de înaltă performanță. În acest sens, am considerat că este necesară editarea ediției a II-a a lucrării Biochimie Medicală, apărută în anul 2001.

În această ediție am adus completări cu noțiuni noi, în special privind analizele de laborator clinic, realizând astfel un manual care prin conținutul său să fie un instrument util în stabilirea diagnosticului, la o mai largă informare asupra valorii şi oportunității diagnosticului de laborator.

Lucrarea cuprinde aspecte teoretice de biochimie clinică referitoare la lichidele biologice: sânge, urină, sucuri digestive, lichid cefalo-rahidian, lichide patologice de puncție. Intenția noastră este de a cuprinde succint elementele esențiale ale Biochimiei Clinice, cu un text care să fie înțeles cu uşurință.

Pentru ca studentul să poată înțelege şi interpreta modificarea parametrilor biochimici, am considerat util, în special pentru studenții care nu prezintă cunoştințe medicale, să facem o scurtă prezentare a fiziologiei aparatului respectiv, a maladiei respective, iar la sfărşitul manualului să prezentăm un scurt dicționar de termeni medicali utilizați în lucrare.

Lucrarea pe lângă caracterul didactic de pregătire al studeților pentru însuşirea disciplinei de biochimie clinică, mai prezintă şi un caracter formativ, de documentare suplimentară a practicienilor din domeniul laboratoarelor clinice de diverse specialități. Nu trebuie să uităm că în domeniul laboratorului clinic profesează pe lângă medici şi farmacişti, biochimişti, chimişti.

Considerăm că lucrarea are largă adresabilitate, ea fiind utilă atât studenților cât şi absolvenților facultății de Farmacie, Biochimie, Chimie, a celor care urmează cursuri de perfecționare şi, în special, celor care îşi desfăşoară activitatea în laboratoarele de analize clinice.

Prof. Univ. Dr. ***DENISA MIHELE***

CUPRINS

CAPITOLUL I
SÂNGELE 11
I.1. FUNCȚIILE SÂNGELUI 12
Reglarea echilibrului acido-bazic 14
Sistemele tampon din plasmă 14
Sisteme tampon din eritrocit 15
Tulburările echilibrului acido-bazic 17
I.2. CONSTANTELE FIZICE ALE SÂNGELUI TOTAL ŞI ALE PLASMEI 21
I.3. ELEMENTELE FIGURATE ALE SÂNGELUI 25
Eritrocitele 25
Compozitia chimică a eritrocitelor 26
Hemoglobina 27
Anemii şi poliglobulii 30
Clasificarea etiopatogenica a anemiilor 30
Poliglobulii (policitemii) 36
Principalele anomalii ale hemoglobinei 37
Leucocitele 41
Tabloul sanguin calitativ 42
Date de laborator în anomalii ale leucocitelor 48
Leucocitoza 49
Limfoamele maligne 50
Boala Hodgkin 50
Linfoamele non Hodgkiniene 52
Leucemiile 55
Leucopenia 58
Trombocitele 59
Hemostaza si fibrinoliza 60
Fiziopatologia hemostazei 66
Hemofiliile 67
Examene hematologice 68
I.4. COMPOZITIA CHIMICA A SÂNGELUI 78
Apa 80
Anomalii ale echilibrului hidroelectrolitic 82
Electroliții 85
Cationii 86
Microelementele (Oligoelementele) 97
Anionii 104
Componentele organice din sânge 110
Substanțe organice neazotate 110
Glucidele serice 110
Fiziopatologia metabolismului glucidic 111

Diabetul zaharat 114
Acizii organici 122
Lipidele serice 123
Transportul plasmatic al lipidelor 126
Variatii patologice ale lipemiei 129
Lipidele şi ateroscleroza 131
Lipidele şi maladiile cardiovasculare 134
Corpii cetonici 140
Substanţe organice azotate neproteice 142
Azot neproteic 142
Uree 143
Creatina şi creatinina 144
Acidul uric 146
Amoniacul şi aminoacizii 151
Bilirubina 152
Diferentierea diverselor tipuri de icter 155
Particularităţi ale metabolismului bilirubinei la nou-nascut 158
Hiperbilirubinemii familiale nehemolitice 159
Substanţe azotate proteice din sânge 160
Principalele proteine plasmatice 161
Fibrinogenul 167
Disproteinemiile din inflamaţia acută 168
Disglobulinemiile prin stimularea sistemului imunoglobulinic (hiperimunoglobulinemii policlonale şi monoclonale) 169
Date de laborator în gamopatii monoclonale 170
Mielomul 170
Macroglobulinemia Waldenström 172
Boala lanţurilor grele 173
Crioglobulinemia 174
Gammopatiile monoclonale benigne 174
Metode de dozare şi separare a proteinelor plasmatice 175
Variaţiile cantitative ale proteinemiei totale 178
Teste de disproteinemie 179
I.5. ENZIMELE PLASMATICE CU VALOARE DIAGNOSTICĂ 181
Principalele enzime plasmatice cu valoare diagnostică 185
Variatiile enzimelor serice în câteva boli caracteristice 193
I.6. MARKERI TUMORALI 197

CAPITOLUL II
EXCREŢIA RENALĂ 203
II.1. ELEMENTE DE STRUCTURĂ FUNCŢIONALĂ RENALĂ 204
II.2. MECANISMUL FORMĂRII URINII 206
II.3. ANALIZA URINII 215
Caracterele generale fizice şi chimice ale urinii 216
Compoziţia chimică a urinii normale 222
Electroliţii urinari 222
Componente organice 224
II.4. COMPONENTE ANORMALE ALE URINII 231
Proteinele 232
Glucidele 235
Corpii cetonici 237

Pigmenţii biliari 237
Pigmenţii sanguini 239
Porfirinele 240
II.5. SEDIMENTUL URINAR 244
II.6. EXPLORAREA FUNCŢIONALĂ RENALĂ 248
Clearance-urile renale 249
Explorarea filtrării glomerulare 250
Fluxul plasmatic renal 252
Controlul funcţiei tubulare 254
II.7. MODIFICAREA PARAMETRILOR BIOCHIMICI ÎN CÂTEVA BOLI RENALE 257
Insuficienţa renală acută 257
Insuficienţa renală cronică 260
Hemodializa şi dializa peritoneală 264
Glomerulonefrita acută 264
Glomerulonefrite rapid progresive 266
Glomerulonefrite cronice 267
Nefropatia diabetică 268
Sindrom nefritic 269
Infecţiile tractului urinar 271
Litiaza renală 274
Cancerul renal 277
Cancerul vezical 278

CAPITOLUL III
LICHIDUL CEFALORAHIDIAN 279
III.1. ROLUL FIZIOLOGIC AL LCR 280
III.2. CONSTANTE FIZICE ŞI FIZICO - CHIMICE 281
III.3. COMPOZITIA CHIMICA A LCR 282
III.4. COMPONENŢA CELULARĂ 287
III.5. EXPLORAREA DE LABORATOR A LCR 287
III.6. MODIFICAREA PARAMETRILOR BIOCHIMICI ÎN INFECŢIILE BACTERIENE ALE SISTEMULUI NERVOS CENTRAL 292
Meningite acute 292
Encefalite 294

CAPITOLUL IV
LIMFA 297

CAPITOLUL V
LICHIDUL INTERSTITIAL 299

CAPITOLUL VI
LICHIDE PATOLOGICE DE PUNCTIE (lichid pleural, peritoneal, pericardic) 301
Lichide pleurale 302
Lichide ascitice 304
Lichide pericardice 306

CAPITOLUL VII
LICHIDUL SINOVIAL 307
Modificarile lichidului sinovial şi a parametrilor biochimici în unele artropatii 308
Poliartrita reumatoidă 310
Artritele reactive 311
Lupusul eritematos sistemic 311

CAPITOLUL VIII
APARATUL DIGESTIV 315
VIII.1. Sucuri digestive 315
VIII.1.1. Saliva 315
VIII.1.2. Sucul gastric 321
VIII.1.3. Funcţiile stomacului 323
VIII.1.4. Fazele secreţiei gastrice 324
VIII.1.5. Principalii agenţi umorali care reglează secreţia gastrică 327
VIII.1.6. Compoziţia sucului gastric 332
VIII.1.7. Explorarea secreţiei gastrice acide 338
VIII.1.8. Valoarea diagnostică a explorării secreţiei gastrice în afecţiunile stomacului 341
Gastritele 341
Ulcerul gastric şi duodenal 343
Carcinomul gastric 348
Carcinomul colorectal 349
Gastrinomul (sindromul Zollinger-Ellison) 350
VIII.2. EXPLORAREA SECREŢIEI INTESTINALE 351
VIII.3. SECREŢIA BILIARĂ 351
Secreţia şi compoziţia bilei 352
Explorarea funcţională hepato-biliară 357
Explorarea insuficienţei biliosecretorii 361
Explorarea sindromului excretobiliar 362
VIII.4. MODIFICAREA PARAMETRILOR BIOCHIMICI ÎN CÂTEVA BOLI HEPATICE ŞI BILIARE 366
Hepatitele virale acute 366
Markerii specifici ai hepatitei virale 369
Hepatita cronică 370
Hepatitele toxice şi medicamentoase 372
Hepatita alcoolică 376
Ficatul gras alcoolic 376
Hepatita alcoolică 377
Ciroza alcoolică 378
Ciroza hepatică 379
Tumorile hepatice 382
Chistul hidatic hepatic 384
Afecţiunile veziculei şi căilor biliare 384
Litiaza biliară 384
Colecistita acută 386
Colecistita cronică 387
Dischinezia biliară 388
Neoplasmele veziculei şi căilor biliare 389
VIII.5. SECREŢIA PANCREATICĂ 390
Compoziţia sucului pancreatic 391
Explorarea funcţională a pancreasului exocrin 394

Modificarea parametrilor biochimici în afecțiuni pancreatice 398
Pancreatitele acute 398
Pancreatitele cronice 401
Cancerul pancreatic 403
VIII.6. INTESTINUL 404
Intestinul subțire 406
Funcția secretorie a intestinului subțire 407
Compoziția sucului intestinal 408
Intestinul gros 409
Funcțiile de digestie şi absorbție ale intestinului gros 410
Funcția secretorie a intestinului gros 411
VIII.7. ROLUL SUCURILOR DIGESTIVE ÎN DIGESTIA ŞI ABSORBȚIA ALIMENTELOR 413
Digestia şi absorbția glucidelor 414
Digestia şi absorbția proteinelor 416
Digestia şi absorbția lipidelor 418
Absorbția vitaminelor liposolubile 421
Absorbția vitaminelor hidrosolubile 422
Absorbția apei şi electroliților 425
Teste de explorare funcțională a intestinului 430
Explorarea digestiei şi absorbției intestinale 430
Teste de explorare globală a digestiei şi absorbției 432
VIII.8. MODIFICAREA PARAMETRILOR BIOCHIMICI ÎN SIONDROMUL MALABSORBTIV 434
Maldigestia 434
Malabsorbția 434
Diareea 434
Diareea cronică 435
Constipația 439

CAPITOLUL IX
VALORILE DE REFERINȚĂ PENTRU TESTELE DE LABORATOR 441

CAPITOLUL X
DICȚIONAR DE TERMENI MEDICALI 455

BIBLIOGRAFIE 483

CAPITOLUL I

SÂNGELE

Sângele este considerat ca un țesut lichid cu o compoziție eterogenă, format dintr-o masă celulară vehiculată într-o soluție apoasă numită plasmă, în a cărei compoziție găsim îndeosebi proteine, lipide, glucide şi electroliți, alături de compuşi de metabolizare din categoria substanțelor azotate şi neazotate, vitamine şi enzime.

Constantele biologice ale sângelui sunt în funcție de câteva caractere particulare, şi anume:

Sângele ocupă tot patul vascular, fiind mediu de schimb şi nutriție.

Componenta celulară cuprinde o parte circulantă mobilizată permanent de hemodinamica cardio-vasculară şi o parte fixă - celulele mezenchimale hematogene.

Toate elementele periferice, după o durată de viață variabilă, se lizează fiind compensate de continua regenerare de către organele hematopoetice.

Regenerarea se face deosebit de regenerarea oricărui alt țesut: fiecare nouă generație adultă se produce prin filiație completă de la celula mezenchimală până la elementele adulte.

Structura morfofuncțională a sângelui se exprimă printr-un număr de constante biologice de natură fizică, biochimică sau morfologică, care indică echilibrul funcțional.

Caracteristica principală a sângelui este menținerea constantă a compoziției şi proprietăților mediului intern. Pe de altă parte componentele sângelui sunt foarte mobile şi ele pot indica rapid orice modificare anormală în organism. Acesta este motivul pentru care sângele este unul dintre cele mai investigate lichide biologice din organism.

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE
BIBLIOTECA nr.3 CLINIC
Nr. de inventar: 10196
Cota: III 39766
CRAIOVA

I.1. FUNCȚIILE SÂNGELUI

Sângele, sub influența forței de contracție a inimii, circulă în toate organele şi țesuturile, îndeplinind o serie de funcții.

Funcțiile sângelui se împart în două grupe mari:

1. Vehicularea tuturor componentelor necesare vieții celulare,

2. Reglarea şi menținerea constantă a proprietăților fizico-chimice ale mediului intern.

Din prima grupă amintim: *funcția cea mai importantă este cea* ***respiratorie***, ea constând în transportarea oxigenului necesar oxidărilor biologice şi a CO_2 rezultat din oxidări. Fiecare eritrocit conține 28 de milioane molecule de hemoglobină, proteină transportoare de oxigen. Datorită afinității mari pe care o are hemoglobina față de O_2 se formează oxihemoglobina în proporție de 95%. La nivelul țesuturilor presiunea parțială a O_2 este mult mai mică, ceea ce face să scadă afinitatea hemoglobinei pentru O_2, să cedeze O_2 celulelor şi să combine cu CO_2 pe care-l transportă de la țesuturi la alveolele pulmonare.

CO_2 în capilarele pulmonare are presiune mare, de aceea o parte din el reacționează cu grupările aminice ale hematiilor formând carbohemoglobina, mai precis carboaminohemoglobina. O altă parte din CO_2 trece în plasmă sub formă de H_2CO_3, unde se combină cu carbonații acizi şi formează rezerva alcalină a plasmei. La nivelul capilarelor pulmonare CO_2 se găseşte sub presiune scăzută. CO_2 dizolvat în plasmă trece în aerul alveolar, la fel şi CO_2 din carbonații acizi şi carboaminohemoglobină, eliminându-se la acest nivel. De reținut că O_2 se fixează mai labil pe hemoglobină decât CO_2.

Funcția de nutriție. Sângele transportă substanțele nutritive, cum sunt: glucoza, aminoacizi, acizi graşi, vitamine, care rezultă ca produşi finali ai etapei digestive a trofinelor, de la nivelul intestinului subțire, prin capilarele sanguine, vena portă, la ficat şi apoi prin vena suprahepatică în circulația generală şi prin aceasta la țesuturi.

De asemenea, prin hormoni, mediatori chimici şi alte substanțe biologic active pe care le conține, sângele contribuie la reglarea activității celulare în raport cu necesitățile organismului.

Funcția de excreție se realizează prin mecanismul de transport a produşilor finali de catabolizare în cadrul metabolismului intermediar, ca: uree, acid uric, creatinină, NH_3. Fenomenul se realizează prin

intermediul acestor compuşi la nivelul rinichilor, la glomerulul filtrant şi de acolo se elimină prin urină.

Rolul de apărare a organismului. Sângele are capacitatea de a transporta substanţele ce intervin în reacţiile specifice şi nespecifice de apărare. Prin proteinele anticorpi (IgG, IgM, IgA, IgD, IgE), limfocitele T şi B, macrofage şi plasmocite, sângele asigură desfăşurarea proceselor imune faţă de agenţii infecţioşi - virusuri şi bacterii - sau proteine străine. Prin proteinele de tipul proteinei C reactive, sistemului complement, properdinei, lizozimului, sângele participă la desfăşurarea mecanismelor de apărare nespecifice. Alături de acestea, prin leucocite, în procesul de fagocitoză pe care îl îndeplinesc, sângele participă la apărarea organismului.

Funcţia de realizare a hemostazei. Dintre componentele celulare plasmatice, trombocitele pot determina oprirea sângerării la nivelul unui vas sanguin mic sau mijlociu.

Funcţia de coordonare umorală. Biocatalizatorii (vitamine, hormoni, enzime) ajung pe cale sanguină la nivelul diferitelor organe reglând procesele metabolice şi astfel sângele participa la menţinerea **homeostaziei organismului.**

Reglarea şi menţinerea constantă a echilibrelor fizico-chimice ale mediului intern, cum sunt:

- **Izoionia**, sau păstrarea constantă a concentraţiilor şi raporturilor ionice (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Cl^-, $H_2PO_4^-$, HCO_3^-) şi a echilibrului acido-bazic.
- **Izotonia**, sau menţinerea la nivel constant a presiunii osmotice a sângelui, proporţională cu numărul de molecule de compuşi nedisociaţi şi cu numărul de ioni ai electroliţilor ce se găsesc în soluţie, dintre care cei mai importanţi sunt Na^+, Cl^-, HCO_3^-. Izotonia este unul dintre factorii importanţi ai homeostaziei şi este menţinut constant prin mecanisme adecvate.

Datorită conţinutului său proteic, în special nivelului de concentraţie al albuminelor serice, sângele exercită o presiune coloid - osmotică datorită căreia este menţinută faza lichidă în sistemul vascular.

- **Izotermia**, sau menţinerea constantă a temperaturii corpului, este realizată prin circulaţia continuă a sângelui.

Pe primul plan se situează echilibrul acido-bazic, de reglare a pH-ului sanguin, de el depinzând şi stabilitatea sistemelor coloidale.

pH-ul normal al sângelui este 7,35 - 7,45. Deşi în cursul proceselor fiziologice normale există continuu cauze care tind să

modifice pH-ul sanguin, totuşi organismul reuşeşte să-l menţină constant datorită mecanismului de reglare a echilibrului acido-bazic.

Există o multitudine de factori care pot influenţa valoarea pH-ului sanguin, cum sunt: aportul alimentar, sau o serie de produşi care rezultă în urma metabolismului intermediar: acidul lactic, piruvic, malic, acetil acetic etc., care pot imprima un pH acid; digestia gastrică imprimă un pH alcalin; munca fizică intensă un pH acid.

Reglarea echilibrului acido-bazic

Reglarea echilibrului acido-bazic se produce prin două mecanisme complexe:

a. mecanism de reglare fizico-chimică

b. mecanism de reglare fiziologică.

Aceste mecanisme intervin atunci când apar cauze care pot să modifice echilibrul acido-bazic.

a. În mecanismul de *reglare fizico-chimică* participă sistemele tampon din plasmă şi eritrocit.

Sistemele tampon din sânge sunt:

1. HCO_3^-/H_2CO_3
2. $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$
3. proteină acidă/proteinat
4. hemoglobină/hemoglobinat
5. oxihemoglobina/ oxihemoglobinat

Sistemele tampon din plasma

Cel mai important sistem tampon care intervine direct în menţinerea echilibrului acido-bazic este *sistemul* H^-CO_3/H_2CO_3. El se găseşte în cantitatea cea mai mare în plasmă şi ambele componente sunt reglabile prin mecanisme fiziologice.

În cazul apariţiei în plasmă a unor acizi (R^-H^+) rezultaţi în urma metabolismului, aceştia vor fi tamponaţi de $NaHCO_3$ rezultând H_2CO_3 şi o sare neutră. Acidul carbonic pe măsură ce se formează se descompune

în CO_2 şi H_2O; CO_2 se elimină la nivelul alveolelor pulmonare şi astfel pH-ul rămâne constant.

$$R^-H^+ + Na^+HCO_3^- \longrightarrow H_2CO_3 + RNa$$
$$H_2CO_3 \longrightarrow CO_2 + H_2O$$

Când în plasmă apar substanţe alcaline, acestea vor fi tamponate de H_2CO_3 rezultând carbonaţi acizi şi H_2O, care se elimină prin rinichi.

Sistemul tampon al fosfaţilor acţionează prin componenta bazică care tamponează acizii fixând ionii de H^+ eliberaţi de acid:

$$HPO4^{2-} + H^+ \longrightarrow H_2PO_4^-$$

Componenta acidă neutralizează ionii OH^- ai bazelor:

$$H_2PO_4^- + HO^- \longrightarrow H_2O + HPO_4^{2-}$$

Capacitatea tampon a proteinelor este dată de diferite grupări constitutive ale acestora. Resturile bazice ale acizilor aminaţi cum ar fi ale argininei, ornitinei, citrulinei, lizinei şi histidinei permit tamponarea aciditătii prin fixarea unui proton. În schimb resturile acide ale acidului aspartic şi glutamic permit tamponarea alcalozei, punând în libertate un proton.

Sisteme tampon din eritrocit

În eritrocit pe lângă aceste sisteme tampon mai acţionează şi sistemele hemoglobină acidă/hemoglobinat de potasiu (Hb/KHb) şi oxihemoglobina acidă/oxihemoglobinat de potasiu (HbO_2H/HbO_2K).

Ele acţionează ca sisteme tampon prin două mecanisme diferite:

- datorită reactivităţii nucleului imidazolic din constituţia histidinei care are capacitatea să accepte şi să cedeze ioni de H^+ (în hemoglobină fiind prezente resturi de histidină)
- datorită capacităţii hemoglobinei de a fixa CO_2 cu formare de derivaţi carbamici.

$$HbNH_2 + CO_2 \longrightarrow HbNHCOO^- + H^+$$

b. Reglarea echilibrului acido-bazic prin mecanism fiziologic are loc prin intermediul unor organe cum sunt: plămânul, rinichiul, pielea şi intestinul (în proporţie mai mică).

Respiraţia intervine în menţinerea constantă a echilibrului acido-bazic prin eliminarea, în proporţii variabile, a acidului carbonic. Tendinţa spre acidifiere a sângelui, o exercită centrul respirator care va creşte eliminarea de CO_2, rezultat din descompunerea H_2CO_3.

Rolul respiraţiei în reglarea echilibrului acido-bazic al organismului este strâns legat de sistemele tampon $H_2CO_3/NaHCO_3$, deoarece concentraţia acidului carbonic în sânge depinde de presiunea parţială a CO_2 în aerul alveolar. CO_2 excită centrul respirator, are loc creşterea frecvenţei şi amplitudinii respiratorii, eliminându-se excesul de CO_2.

Rinichiul participă la menţinerea echilibrului acido-bazic prin modificarea pH-ului urinar (eliminând ionii de H^+ sub formă de acizi liberi, de fosfaţi monobazici şi prin funcţia de amoniogeneză *(Fig. 1).*

Astfel, în cursul metabolismului apar uneori acizi cum sunt acidul acetil acetic sau beta-hidroxibutiric, care în cantităţi mari ar putea modifica pH-ul sanguin. Aceşti acizi sunt eliminaţi prin rinichi în forma lor liberă.

Tot la nivelul rinichilor este reabsorbită întreaga cantitate de ioni carbonat acid. Astfel, CO_2 ajuns odată cu sângele la rinichi, sub influenţa anhidrazei carbonice formează H_2CO_3, care ionizează punând în libertate HCO_3^- şi H^+. Ionul HCO_3^- difuzează din nou în sânge, iar ionii H^+ trec în lumenul tubului contort, unde întâlnesc ionii HCO_3^- existenţi în urina primară, formând H_2CO_3.

La nivelul tubilor contorţi o parte din ionii H^+ înlocuiesc în molecula fosfatului disodic un ion de Na^+, care va fi reabsorbit, astfel fosfatul disodic se transformă în fosfat monosodic care se elimină prin urină.

Rinichiul asigură menţinerea echilibrului acido-bazic al sângelui şi prin sinteza amoniacului, în celula tubulară, în principal din glutamină, ceea ce permite excreţia acizilor sub formă de săruri de amoniu. *(Fig. 1).*

Dată fiind larga răspândire a sistemelor tampon, toate ţesuturile şi organele sunt capabile să menţină concentraţia ionilor H^+ utilizând capacitatea tampon a fosfaţilor şi a proteinelor.

Astfel, pielea prin secreţiile sudorale poate elimina aciditatea fixă (acid lactic, acid uric). Traiectul digestiv este consumator de ioni H^+ pentru formarea HCl, dar şi de H^-CO_3 pentru formarea secreţiilor sucurilor intestinale alcaline.

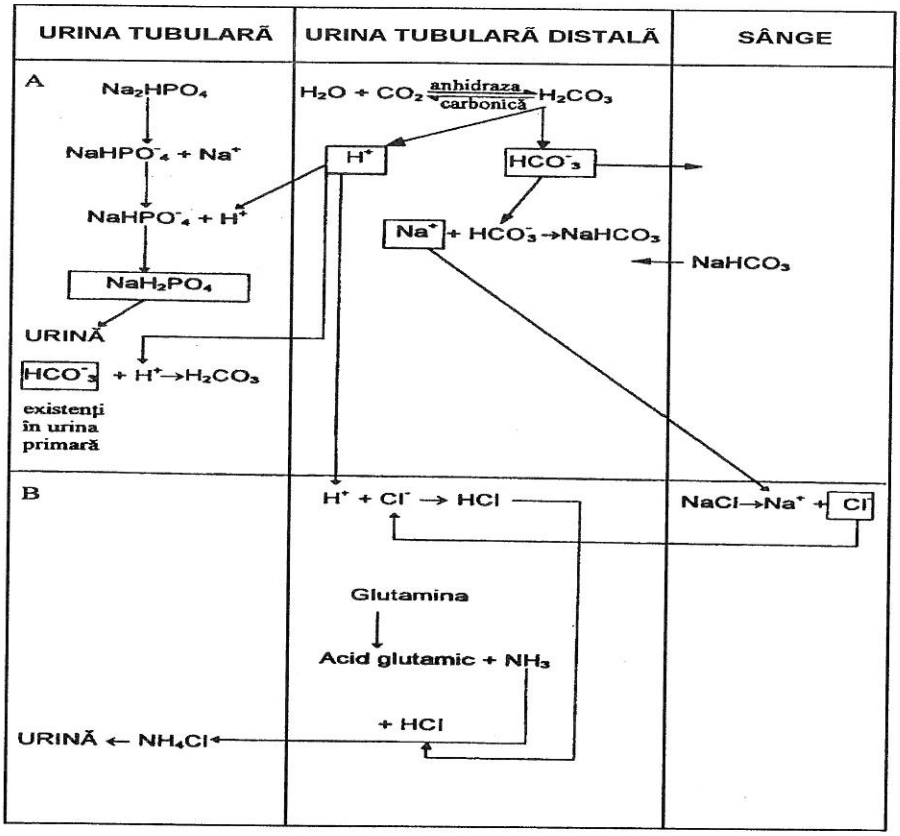


Fig. 1 – Mecanisme de reglare a echilibrului acido-bazic al sângelui

Tulburările echilibrului acido-bazic

Se pot prezenta ca acidoze când pH-ul sanguin scade sub 7,30 şi ca alcaloze când acesta tinde să depăşească valoarea sa superioară (peste 7,45).

În mod normal raportul HCO_3^-/H_2CO_3 este 20/1. Scăderea acestui raport duce la acidoză iar creşterea lui la alcaloză. După natura lor ele pot fi metabolice şi respiratorii, astfel:

- scăderea H^-CO_3 este responsabil de acidoza metabolică
- creşterea H^-CO_3 este responsabil de alcaloza metabolică

- scăderea H_2CO_3 este responsabilă de alcaloza respiratorie
- creşterea H_2CO_3 este responsabilă de acidoza respiratorie

În cazul perturbării pH-ului, organismul intervine prin sisteme compensatorii pentru a aduce acest raport la normal.

În funcție de modificările pH-ului, se realizează acidoză sau alcaloză compensată sau decompensată.

Acidozele metabolice sunt cele mai frecvente dezechilibre acido-bazice şi se datoresc acumulării în exces a unor acizi, cu scăderea carbonaților acizi. Acidozele metabolice pot avea mecanisme variabile:

1. *Exces de H^+ în prezența unor mecanisme homeostatice normale.*

Acidocetoza poate surveni în cursul diabetului zaharat sau în cursul inaniției, când se produc în organism mari cantități de corpi cetonici care se comportă ca nişte **acizi**.

Acidoza lactică este o consecință a anoxiei celulare în cazul şocurilor severe, în caz de efort muscular intens, în ciroze, pancreatite sau diabetici tratați cu biguanidine, intoxicațiile cu CO_2, etanol, metanol, salicilați.

Cetoacidoza alcoolică reprezintă o manifestare frecventă la pacienții cu malnutriție cronică ce consumă zilnic cantități mari de alcool. Majoritatea pacienților prezintă tulburări acido-bazice mixte. Are loc o scădere a HCO^-_3 dar aproximativ 50% dintre pacienți pot avea şi un pH normal sau alcalin.

Cetoacidoza metabolică alcoolică poate fi datorată: *a*) excesului de β-hidroxibutirat şi acetoacetat; *b*) acidoză lactică datorată metabolizării alcoolului care măreşte raportul NADH/NAD determinând creşterea producției de lactat şi scăderea utilizării acestuia. În acelaşi timp se constată un deficit de tiamină care inhibă piruvat carboxilaza şi care apoi creşte şi mai mult producția de acid lactic; *c*) acidoza hipercloremică secundară pierderii de carbonați acizi prin urină asociată cu cetonurie.

Acidoza uremică apare în incapacitatea rinichiului de a excreta H^+, asociată cu retenția anionilor acizi, cum ar fi PO_4^{3-}, SO_4^{2-} care uneori poate fi severă.

Acidoze prin pierderi excesive de cationi (în special sodiu) pe cale digestivă (vărsături, diaree) sau renală (insuficiența renală cronică, boala Addison).

Acidoze medicamentoase, survin prin administrarea de substanțe acidifiante, cum sunt NH_4Cl, KCl, $CaCl_2$, salicilați, metanol etc. În aceste cazuri eliminarea de H^+ şi reabsorbția şi regenerarea de HCO_3^- nu reuşesc să echilibreze producția crescută de H^+. Carbonații acizi vor scădea în plasmă, iar urina va fi acidă.

2. Insuficiența mecanismelor homeostatice

Insuficienta eliminare de H^+ la nivelul rinichiului poate fi întâlnită în: insuficiența renală generalizată care afectează atât glomerulii cât şi tubii renali. În insuficiența tubilor renali este afectată secreția de H^+ şi reabsorbția de Na^+. O situație similară se întâlneşte în cursul terapiei cu diuretice de tipul acetazolamidei, care inhibă anhidraza carbonică, ducând la reducerea procesului de regenerare a carbonaților acizi şi scăderea secreției de H^+.

Manifestări clinice

Se pot diferenția două forme:

- o formă uşoară, asimptomatică asociată cu stări de oboseală, greață;
- o formă gravă cu accelerarea ritmului respirator (respirație Kussmaul), uscăciunea mucoaselor, grade de comă de profunzime crescândă.

Date de laborator:

- scăderea pH-ului sanguin;
- valoarea HCO_3^- este scăzută;
- creşterea potasemiei datorită schimburilor celulare şi renale între K+ şi H+;
- în acidoacetoză şi acidoză lactică are loc o scădere a anionilor datorită pierderilor de HCO_3^-

.**Acidoza respiratorie** are la bază creşterea ionilor de H^+, ca urmare a unor tulburări respiratorii care au provocat acumularea de CO_2 în sânge.

Ea se poate datora unor afecțiuni pulmonare care pot îngreuna ventilația (cum sunt pneumoniile, staze pulmonare, edem pulmonar), unor afecțiuni cardiace (insuficiența cardiacă), inhibiția centrului respirator în narcoză, administrări excesive de barbiturice, morfină, alcool, tumori cerebrale etc.

Manifestări clinice: cefalee, dispnee, cianoză, dezorientare şi în final comă prin acumulare masivă de CO_2.

Date de laborator:

- scăderea pH-ului sanguin;
- pCO2 mult crescut.
- dacă tulburarea este cronică apare hipocloremia.

Alcaloza metabolică se caracterizează prin creşterea concentrației plasmatice a ionilor de carbonat acid (bicarbonat). Aceasta se poate întâlni în consum exagerat de carbonat acid de sodiu, citrat, lactat; în pierderi de H^+, în special în stenoza pilorică, vărsături; în deficit

de ioni de K^+ în caz de aport insuficient, hiperhidratări şi mai ales pierderi pe cale digestivă sau renală, după administrarea de diuretice mercuriale, tratamente cu corticoizi. În condiţiile în care Cl^- seric este scăzut prin pierderile de HCl, NaCl şi KCl la nivelul stomacului, anionul rămas disponibil este HCO_3^- a cărui reabsorbţie va creşte la nivelul tubului proximal, susţinând astfel alcaloza.

După terapia cu diuretice are loc o scădere bruscă a volumului extracelular prin pierderile urinare de NaCl şi apă.

Alcaloza metabolică se asociază de obicei cu hipokaliemie apărută prin acţiunea directă a mediului alcalin asupra excreţiei renale de K^+

Manifestările clinice cele mai frecvente sunt: starea de extenuare, paralizii, parestezii (datorate hipopotasemiei), o respiraţie lentă asociată cu o hiperexcitabilitate neuro-musculară dată de hipocalcemie.

Date de laborator:

- pH-ul sanguin crescut dar rapid parţial compensat;
- creşte concentraţia de HCO_3^-;
- hipopotasemie şi hiponatremie datorată ieşirii ionilor H+ din celulă urmată de intrarea Na+ şi K+;

Alcaloza respiratorie este consecinţa unei hiperventilaţii şi eliminarea în exces a acidului carbonic. Ea se poate întâlni în caz de leziuni ale trunchiului cerebral, sau excitarea centrului respirator, în cazuri de intoxicaţii cu salicilaţi, în boli nervoase (encefalite, meningite, tumori).

Manifestările clinice cele mai frecvente sunt parestezііle iar *semnul clinic* obiectiv este tetania care apare în alcaloze severe datorită scăderii calciului ionizat.

Date de laborator:

- pH sanguin crescut;
- pCO2 scăzut;
- urină alcalină.

Explorarea echilibrului acido-bazic se efectuează în mod curent la nivelul plasmei. În practică, metodele cele mai utilizate sunt:

- *Determinarea pH-ului plasmatic* se efectuează prin tehnica electromagnetică sau colorimetrică, pe sânge arterial sau venos prelevat fără garou, pe heparină. Determinarea pH-ului se va face în primele 15-30 minute de la recoltare. Valorile pH-ului sunt influenţate de temperatura camerei (sub 37,5 se va scădea 0,015 din valoarea pH-ului găsit), vârstă, alimentaţie, eforturi fizice, digestie, etc.
- *Determinarea carbonaţilor acizi plasmatici* (rezerva alcalină) se efectuează cu ajutorul aparatului Van Slyke şi are la bază măsurarea

cantității totale de CO_2 eliberat din plasmă sub acțiunea unui acid puternic (H_2SO_4).

Valorile normale în sângele arterial = 45-50 volume CO_2 la 100 mL sânge; exprimat în miliechivalenți valorile sunt cuprinse între 25-30 (media mEq/L).

- *Microechipamentul ASTRUP permite calculul, pe baza unei nomograme, la o serie de parametri ai echilibrului acido-bazic şi variații ale acestora în diverse circumstanțe patologice.*

Pentru aceste determinări se recoltează sânge capilar în condiții de anaerobioză în tuburi heparinizate livrate cu aparatul.

Metoda se bazează pe relația invers proporțională dintre presiunea parțială a CO_2 şi valorile pH-ului sanguin.

Determinarea pCO_2 se poate efectua cu ajutorul electrodului Severinghaus.

Principiul metodei constă în determinarea pH-ului prin metoda electrometrică. Se determină variația pH-ului unei soluții de H^-CO_3 separată de sânge printr-o membrană fină de teflon sau silicone, permeabilă numai pentru CO_2. Difuzia CO_2 duce la scăderea pH-ului care este proporțională cu cantitatea de CO_2 prezentă în sânge (Valdiguie, P, 1995).

I.2. CONSTANTELE FIZICE ALE SÂNGELUI TOTAL ŞI ALE PLASMEI

1. Volumul sanguin total exprimă cantitatea totală, în unități de capacitate a sângelui circulant care ocupă la un moment dat toate compartimentele aparatului cardiovascular: cavități cardiace, artere, vene capilare.

Cantitatea totală de sânge din organism este 1/12-1/13 din greutatea corpului (5-7,5%).

Un adult cu o greutate de 70 kg are în medie 5 - 5,5 L sânge din care aproximativ 2/3 sunt în circulație, restul de 1/3 sub formă de rezervă în ficat, splină, glande endocrine etc, la care se apelează:

- fie în condiții fiziologice pentru asigurarea unui aport crescut de O_2, ca în cazul unui efort fizic crescut,
- fie patologic, în pierderi masive de sânge.

Determinarea volumului sanguin (volemia)

Metoda cu albastru Evans. Se injectează intravenos o soluție 0,5% albastru Evans, colorant care nu difuzează în țesuturi şi se elimină foarte încet. Cunoscând cantitatea de colorant injectată şi determinând cantitatea lui în plasmă înainte de a fi eliminat, se poate afla volumul plasmei. Cu ajutorul valorii hematocritului se poate calcula volemia.

Bolnavul este supus unei diete fără grăsimi timp de 24 de ore înaintea probei, pentru a evita o eventuală creştere a lipemiei care falsifică rezultatele fotometrice. Cu 12 ore înainte de probă pacientul nu se alimentează şi nu bea nimic. În tot acest timp el trebuie să fie în repaus.

Se recoltează bolnavului 10 mL sânge pe anticoagulant şi apoi prin acelaşi ac i se injectează foarte repede 3 mL colorant 0,5%. Se notează exact momentul când i s-a injectat colorantul şi după 3 min se recoltează sânge pe anticoagulant de la celălalt braţ. Cele două probe se centrifughează. Se citeşte densitatea optică a plasmei colorate, folosind pentru cuva de compensaţie plasma obţinută din sângele recoltat înainte de injectarea colorantului.

Se poate folosi şi soluţie de roşu de Congo 1%.

Determinarea volumului plasmatic. Se recoltează 10 mL sânge fără anticoagulant. Se injectează apoi imediat 10 mL soluţie roşu de Congo 1%, după 3 min se recoltează 5 mL de sânge. Probele de sânge se centrifughează şi serul se decantează. Se determină extincţia ES a serului colorat, faţă de serul din sângele recoltat înainte de injectarea colorantului (filtrul S 50). Se determină apoi extincţia EK a soluţiei standard formată din: 1,8 mL ser normal, 0,2 mL soluţie roşu de Congo 0,1% faţă de o soluţie formată din 1,8 mL ser normal şi 0,2 mL apă distilată.

$$\text{Volum plasmatic în litri} = \frac{EK}{ES}$$

Pentru determinarea volemiei, pe lângă determinarea volumului plasmatic, în paralel se determină şi hematocritul (vezi examene hematologice).

$$\text{Volemia} = \frac{\text{Volum plasmatic} \times 100}{100 - \text{hematocrit}}$$

Modificările volemiei pot fi determinate de:

- factori endocrini;
- factori metabolici şi neurovegetativi;
- modificări ale mediului extern;

Dintre aceşti factori menţionăm:

- starea fiziologică din timpul graviditătii când datorită secreţiei crescute de hormoni estrogeni şi progesteron are loc o retenţie hidrosalină care duce la creşterea volemiei cu 20-30%;
- temperaturile ridicate ale mediului ambiant duc la scăderea volemiei datorită intensificării transpiraţiei;

• modificarea accelerației gravitaționale, (ca în cazul aviatorilor pe supersonice sau a cosmonauților) datorită imponderabilității, scade volemia.

Variații patologice ale volemiei

• *hipovolemii* întâlnim în: deshidratări profunde (transpirații, vărsături, diaree), arsuri întinse, anemii severe, post hemoragic (imediat), utilizarea diureticelor, afecțiuni renale, diabet zaharat sau insipid, deshidratare prin aport insuficient de lichide. Hipovolemia se caracterizează prin scăderea în greutate, sete excesivă, mucoase uscate, asociate uneori cu tahicardie de repaus, hipotensiune ortostolică sau şoc.

• *hipervolemii* se întâlnesc în: retenții hidro-saline, post-transfuzional, consum excesiv de sodiu sau administrarea unor medicamente care afectează sistemul renină- angiotensină (inhibitori ai enzimei de conversie, inhibitori ai sintezei de prostaglandine, blocanți ai canalelor de calciu).

Hipervolemia se manifestă clinic prin creşterea în greutate, prin edeme sau ascită. Edemele pot fi locale sau sistemice însoțind afecțiuni ca insuficiența cardiacă congestivă, ciroza sau sindroamele nefrotice.

2. Vâscozitatea sângelui total

Fiziologic, vâscozitatea sângelui total este în funcție de numărul, forma şi dimensiunile hematiilor, iar pentru plasmă este în funcție de concentrația proteinelor şi în special a celor cu moleculă mare (globuline şi fibrinogen).

Variații patologice ale vâscozității sunt legate de modificările în plus sau în minus ale acestor componente.

Hipervâscozitatea sângelui se poate întâlni în următoarele împrejurări:

– creşterea numărului de elemente celulare sanguine, eritrocite în policitemii sau leucocite în leucemii;
– creşterea vâscozității serului sanguin;
– creşterea rezistenței eritrocitelor la deformare în timpul trecerii prin capilare, întâlnit în sferocitoză sau hemoglobinoză S.

Hipervâscozitatea datorită creşterii numărului de elemente celulare sanguine se măsoară pe sângele total cu ajutorul vâscozimetrului Hess.

Hipervâscozitatea serului

Studiul vâscozității serului se măsoară cu vâscozimetrul Oswald, la temperatura de 37°C. Creşterea vâscozității este legată de doi factori şi anume: de concentrația proteinelor serice şi vâscozitatea intrinsecă a

fiecărei proteine în parte. Vâscozitatea intrinsecă este influențată de mărimea moleculară şi de forma moleculei. Sindroamele de hipervâscozitate serică sunt legate de anomaliile imunoglobulinelor întâlnite în diferite disglobulinemii primare. Astfel, moleculele de IgM pe lângă greutatea moleculară mare, prezintă şi o formă deosebită a moleculei care predispune la o tendință de agregare şi prin aceasta contribuie la creşterea vâscozității serului când concentrația de IgM creşte.

În mielomul multiplu hipervâscozitatea serului se datorează concentrației mari de IgG.

Vâscozitatea serului mai creşte în boli de colagen cu prezența de factor reumatoid şi tendința de agregare a unor complexe polimere de IgG.

3. Presiunea coloid osmotică este dată de substanțele coloidale, macromolecule şi anume proteinele plasmatice.

Dintre proteinele plasmatice, albuminele determină 80% din presiunea coloidosmotică, globulinele 20%, iar fibrinogenul, proteina cu greutatea moleculară cea mai mare nu intervine.

4. Greutatea specifică a sângelui total este valoarea raportului dintre greutatea unui volum de sânge total şi greutatea unui volum egal de apă la temperatura de 4°C.

Greutatea specifică este o constantă care practic exprimă relațiile dintre concentrația în proteine totale a plasmei, valorile hematocritului şi concentrația în hemoglobină a sângelui.

5. Presiunea osmotică (Po) este direct proporțională cu numărul particulelor aflate în soluție. Soluțiile de electroliți au o presiune osmotică mai mare decât soluțiile de neelectroliți sau suspensiile coloidale. Astfel, o soluție molară de NaCl are o presiune osmotică de 2 ori mai mare decât o soluție molară de glucoză, deoarece NaCl disociază eliberând 2 particule pe când glucoza nu disociază. 4/5 din Po plasmatică este dată de NaCl, iar în spațiul intracelular 50% de ioni de K^+.

Elementele figurate nu influențează presiunea osmotică, deci Po a sângelui este aproximativ egală cu Po a plasmei.

Variațiile Po determină mişcarea apei dintr-un compartiment în altul.

Hipotonia osmotică se realizează prin exces de apă şi pierderi de săruri. În hipotonie osmotică apa plasmatică trece în spațiul interstițial, care devine şi el hipoton. Apa extracelulară trece în celule, produce hiperhidratare celulară care compromite funcția celulei.

Hipertonia osmotică se realizează prin deficit de apă extracelulară şi exces de săruri. În această situație, apa trece din celule

în plasmă pentru menținerea echilibrului. Ca urmare celulele se ratatinează, pierd ionii de K^+ şi funcția celulei este compromisă.

6. Culoarea sângelui

Sângele arterial are o culoare roşu aprins, iar sângele venos o culoare roşu închis datorită hemoglobinei reduse.

Când concentrația în hemoglobină redusă este mai mare de 5% se instalează cianoza.

Componentele patologice prezente în sânge pot modifica culoarea acestuia, de exemplu methemoglobina imprimă o culoare roşu-brună iar carboxihemoglobina o culoare roşu-aprins.

I.3. ELEMENTELE FIGURATE ALE SÂNGELUI

Sângele este format din 40-45% elemente celulare figurate, care se găsesc în plasmă, şi reprezintă 55-60% din volumul sângelui (Tabelul 9).

Elementele figurate ale sângelui sunt:

- globulele roşii (eritrocite sau hematii);
- globulele albe (leucocite);
- plachete sanguine (trombocite).

Eritrocitele

Eritrocitul (Red Blood Cell; RBC) este o celulă transportoare de pigment respirator (hemoglobina), capabilă de sinteza acestui pigment şi de autoreproducție.

La mamifere eritrocitul este anucleat şi este specializat pentru transportul gazelor respiratorii (O_2 şi CO_2), pentru protecția şi menținerea hemoglobinei într-o situație optimă pentru transportul gazos şi pentru menținerea pH-ului sanguin.

Ca structură eritrocitul de origină umană este o celulă sub formă de disc biconcav cu diametrul de 7-7,5 μ şi grosimea 2 μ.

Forma eritrocitului este condiționată de pH, de tonicitatea mediului extracelular şi de conținutul de lipide şi proteine citoplasmatice.

Forma de disc biconcav a eritrocitului este de asemenea pusă pe seama prezenței ATP, deoarece reducerea acestuia duce la apariția sferocitozei, fenomen reversibil prin restabilirea concentrației normale a

ATP. Scăderea sub 50% a ATP din eritrocite determină apariția unor forme patologice (eritrocite cu țepi), iar o scădere de 90% determină sferocitoză. După 60 de zile de viață, nivelul ATP eritrocitar scade exponențial, ceea ce explică distrugerea eritrocitară după 110-130 de zile.

Compoziția chimică a eritrocitelor

Hematiile conțin 60% apă şi 35% substanțe solide.

Componentele minerale. Compoziția minerală a hematiilor este variabilă cu specia, şi ea este, din punct de vedere procentual, total diferită de cea a plasmei. Dintre cationi, elementul preponderent este reprezentat de K^+, în medie 125 mEq/L, în timp ce Na^+ se găseşte în concentrație de numai 20 mEq/L, față de 142 mEq/L în plasmă. De asemenea Ca^{2+} are un nivel de 4 ori mai scăzut decât în plasmă. Dintre anioni predomină Cl^-, însă ca şi sodiul într-o concentrație mult mai mică decât în plasmă, de 50 - 60 mEq/L față de 103 mEq/L în plasmă. De asemenea şi ionul carbonat acid (HCO_3^-) se găseşte în concentrație mai mică decât în plasmă. Anionii organici, acidul difosfogliceric, acidul adenozindifosforic sunt în concentrație ridicată (75 mEq/L).

Componente organice nehemoglobinice

Ureea şi glucoza se găsesc în concentrații mai mici față de plasmă. Colesterolul este preponderent în stare liberă față de plasmă, în care 2/3 este esterificat. O caracteristică a eritrocitului este reprezentată de varietatea, repartiția şi concentrația relativ mare a compuşilor fosforilați, nucleotizi, fosfolipide, acid 2-3-difosfogliceric, hexozo-fosfați. Nivelul adenin nucleotizilor este realizat prin prezența de ATP, ADP, NAD, NADH, NADP, NADPH.

Glutationul sanguin este localizat în totalitate în eritrocite atingând nivelul de 0,28-0,34 g/L. Forma sa redusă este preponderentă şi importantă fiziologic, ca activator al enzimelor tiolice şi ca factor de întreținere a integrității membranei eritrocitare. El este păstrat în stare redusă sub acțiunea glutation-reductazei, al cărei deficit determină un tip de anemie hemolitică.

Hematiile mai conțin şi cantități mici de protoporfirine şi urme de coproporfirine.

Enzime. Eritrocitele sunt bogate în enzime. Este de subliniat în primul rând prezența tuturor enzimelor glicolitice. Ele pot fi clasificate în

trei categorii, în funcție de activitatea lor măsurată in vitro şi raportată la 1 mL de celule:

a *enzime cu activitate slabă:* hexokinaza, aldolaza;

b *cu activitate medie:* fosfohexoizomeraza, amilaza, piruvatkinaza

c *enzime cu activitate puternică:* lactatdehidrogenaza, fosfoglicerat-kinaza, gliceraldehidfosfatdehidrogenaza.

Hematiile conțin şi acetilcolinesterază, cu acțiune specifică asupra acetilcolinei, fosfatază, catalază, anhidraze carbonice. Cu valoare funcțională în eritrocit sunt şi enzimele şuntului pentozic; în general, glucozo-6-fosfatdehidrogenaza, cât şi complexul enzimatic care asigură reducerea la hemoglobină a micilor cantități de methemoglobină formate în condiții normale. În eritrocit se găseşte şi lactozo-1-fosfat-uridil-transferaza, al cărei deficit determină boala metabolică înnăscută numită galactozemie.

Membrana eritrocitului. Eritrocitul este limitat de o membrană care constituie 3,4% din greutatea uscată a acestuia şi este alcătuită din lipoproteine şi glicoproteine, formând o structură fibrilară. Componentele lipidice membranare (colesterol, fosfolipide, glicolipide), se află într-un schimb activ cu cele plasmatice. În decurs de 12 ore colesterolul membranei eritrocitare se schimbă aproape în întregime cu colesterolul plasmatic.

Membrana eritrocitară conține numeroase protein-enzime implicate în permeabilitatea membranei şi metabolismul eritrocitar, de exemplu ATP-aza, şi este purtătoarea antigenelor eritrocitare.

Funcția membranei eritrocitare este de a menține o repartiție inegală a Na^+ şi K^+ în eritrocit şi plasmă şi de a asigura un volum celular constant prin acțiuni metabolice active. Membrana eritrocitară este impermeabilă pentru fosfoderivații ce se formează în timpul glicolizei, în timp ce este permeabilă pentru glucoză şi acid lactic. Ea opreşte de asemenea nucleotizii adenilici şi piridinnucleotizii, care nu difuzează în plasmă, decât ca urmare a alterării proprietăților fizico-chimice ale membranei.

Hemoglobina

Hemoglobina (Hb, HGB) este pigmentul sanguin de natură heteroproteică, a cărei sinteză continuă în eritrocit, chiar în stadiul său

matur şi care prin proprietăţile sale fizico-chimice asigură funcţia fundamentală a eritrocitului de transportor de gaze (O_2 şi CO_2) între plămân şi ţesuturi. Hemoglobina reprezintă 1/3 din masa celulară eritrocitară. În sângele arterial hemoglobina se găseşte numai ca oxihemoglobină.

Funcţiile fundamentale ale hemoglobinei sunt:

- transportul oxigenului şi CO_2 în sânge;
- participă la menţinerea echilibrului acido-bazic şi a concentraţiei ionilor de H^+, în spaţiul extracelular, luând parte la acţiunea de tamponare, în calitate de component al sistemelor tampon din sânge.

Un organism cu o greutate medie de 70 kg şi un volum sanguin de 5 l conţine 800 g hemoglobină cu o producţie medie de aproximativ 6,35 g/zi. Concentraţia fiziologică este în medie de 15 g%.

Eritrocitul uman conţine 200-300 milioane de molecule de hemoglobină, fiecare moleculă fiind alcătuită din 4 grupe hem şi o moleculă de hemoglobină, constituită din 2 perechi de lanţuri polipeptidice. Resturile hidrofile polare ale lanţurilor globulinice sunt situate la suprafaţa moleculei de hemoglobină şi interacţionează cu apa; resturile nepolare, interioare, au rolul de a stabiliza structura tridimensională a hemoglobinei.

Hemul este o metaloporfirină rezultată din unirea protoporfirinei cu fierul. Porfirinele sunt constituite din 4 nuclei pirolici uniţi într-o structură ciclică prin legături meten, iar protoporfirina care intră în constituţia hemului are cei 8 atomi de H ai porfirinei înlocuiţi cu 2 vinili, 4 metili şi 2 propionili. *(Fig. 2.)*. Componenta principală din sângele adultului este hemoglobina A_1 (HbA_1) alături de care se găseşte în cantitate mică HbA_2. La embrion există o HbE iar la făt şi nou născut HbF.

Toate tipurile de hemoglobină conţin 4 lanţuri polipeptidice de câte 2 tipuri. Sinteza fiecărui tip de lanţ de globină (alfa, beta, gama, delta, epsilon, zeta) este codificat de gene separate. Subunităţile epsilon şi zeta sunt întâlnite doar în hemoglobina embrionară.

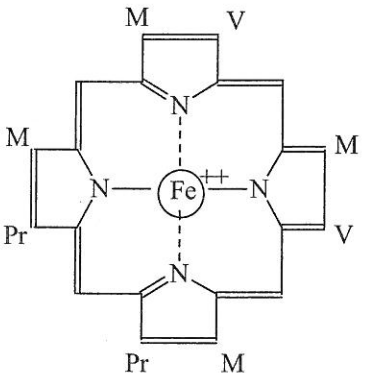
În sângele adultului putem găsi:

HbA_1	95,5 - 97,5%
HbA_2	1,3 - 3,5%
Hb F	1%

Grupul hem din hemoglobină este prezent şi în molecula de mioglobină, în catalază, peroxidază şi în citocromul b.

Valorile normale pentru hemoglobină

Bărbați:	13-17g/dL
Femei:	11-15 g/dL
Nou-născuți: (1 zi)	18,5 g/dL



$M = -CH_3$

$V = -CH=CH_2$

$Pr = -CH_2-CH_2-COOH$

Figura nr. 2 - Structura hemului

Hemoliza fiziologică (eritroliza)

După o durată medie de viață de aproximativ 120 de zile, hematiile îmbătrânite sunt distruse de către celulele macrofage ale sistemului reticulohistiocitar (SRH) din măduva osoasă, ficat, splină.

Hematiile îmbătrânite sunt recunoscute de către macrofage datorită scăderii conținutului lor în ATP, a ionilor de K^+ şi Ca^{2+}, a cantității de enzime glicolitice, de lipide, de esteri fosforici şi a creşterii conținutului de Na^+. Aceste modificări metabolice duc la anumite modificări fizice a eritrocitelor, cum este sfericitatea. Hematiile îmbătrânite sunt înglobate şi fagocitate cu ajutorul echipamentului lizozomal al histiocitelor.

În mod normal între procesul de eritropoeză şi eritroliză există un echilibru care permite menținerea numărului hematiilor.

În condiții patologice, când acest echilibru este distrus în favoarea eritrolizei, se ajunge la anemie şi icter de diferite intensități.

Hemoliza patologică poate avea drept cauze:

- modificarea structurală a hematinei;
- acțiunea hemolizantă a unor substanțe, cum ar fi: veninul şerpilor, saponinele, hemolizinele streptococului β-hemolitic.

Anemii şi poliglobulii

Patologia eritrocitelor se poate exprima fie printr-un deficit eritrocitar, fie hemoglobinic sau global (anemii) fie printr-un exces de producţie eritrocitară peste valorile normale (poliglobulii).

Valorile normale ale eritrocitelor la bărbaţi variază între 4,5 mil.-5,5 mil/mm^3, la femei 4,2 mil.-5 mil/mm^3, la naştere 4,5 mil.-6 mil/mm^3. Despre anemie vorbim atunci când, numărul eritrocitelor scade sub 4 mil/mm^3. În cazul unei anemii grave, deseori cantitatea de plasmă circulantă creşte.

Din punct de vedere clinic, anemia poate prezenta o formă uşoară, medie sau severă, în funcţie de valorile hemoglobinei şi a hematocritului. Astfel:

- anemia uşoara: Hb = 8-11 g/dL, Ht = 30-39%
- anemia medie: Hb = 6-8 g/dL, Ht = 22-30%
- anemia severă: Hb = 2-6 g/dL, Ht = 10-22%

Clasificarea etiopatogenică a anemiilor

I. Anemii prin producţie scăzută de eritrocite.

A. prin lipsă de formare a eritroblaştilor

- anemie aplastică (idiopatică, ereditară, după citostatice sau iradiere)

B. prin deficit de maturare a eritroblaştilor

- tulburări ale diviziunii celulare (sinteză deficitară de ADN): anemii megaloblastice prin deficit de vitamină B_{12} sau acid folic; după tratament cu "antimetabolite" sau alte medicamente,
- sinteză deficitară de hemoglobină (deficit sau tulburări de utilizare a fierului, anemii sideroblastice, talasemii).

II. Anemii prin distrucţie eritrocitară crescută (anemii hemolitice).

A. prin defecte intraeritrocitare

- ereditare: defecte enzimatice (ale glicolizei, ale sistemelor reductoare), defecte ale sintezei de globină (hemoglobinopatii), anomalii ale membranei (sferocitoza), porfiria eritropoetică;
- dobândite: hemoglobinuria paroxistică nocturnă, saturnism.

B. prin factori extraeritrocitari

- anticorpi;
- agenţi infecţioşi;
- sechestrare splenică (ciroză hepatică, diverse splenomegalii);
- fragmentare eritrocitară (valvule cardiace artificiale, cancer etc.);
- factori fizici şi chimici (arsuri, venin de şarpe).

III. Anemii prin pierderea extravasculară de eritrocite (hemoragia acută, hematoame mari).

IV. Anemii prin mecanisme complexe:

- anemiile din bolile inflamatorii cronice, boli renale cronice, boli endocrine, ciroză hepatică.

Pentru orientarea diagnostică este utilă şi clasificarea morfologică după mărimea eritrocitelor, în:

1 anemii macrocitare (megaloblastice şi nemegaloblastice) caracterizate prin volumul mediu eritrocitar MCV (Mean Corpuscular Volume) cuprins între 100-150 fL.

MCV se determină cu ajutorul aparatelor de analiză hematologică şi estimează volumele particolelor individuale (vezi teste hematologice).

Anemii macrocitare se întâlnesc în deficit de vitamina B_{12}, deficit de acid folic.

2. anemii microcitare hipocrome (prin sinteză deficitară de hemoglobină) (MCV 50-82 fL) întâlnite în anemia ferprivă, în anomalii ale sintezei hemului, (anemii sideroblastice) şi în anomalii ale sintezei hemoglobinei (Talasemii, hemoglobinopatii)

3. anemii normocitare normocrome (MCV 82-98 fL) (anemii posthemoragice, hemolitice, aplazice etc).

Anemiile hipocrome au ca element fiziopatologic comun sinteza scăzută de hemoglobină, tradusă prin aspectul hipocrom al eritrocitelor.

Formarea insuficientă de hemoglobină poate ține de fiecare din componentele acesteia: globina, protoporfirina şi fierul.

Sinteza deficitară a globinei se întâlneşte în talasemii (vezi anemiile hemolitice).

Deficitul de formare a hemului rezultă din blocarea uneia din reacțiile enzimatice ale sintezei acestuia. Cauzele pot fi: un deficit congenital sau dobândit al enzimelor respective, inhibarea activității lor (de ex. în saturnism) sau tulburări în metabolismul vitaminei B_6.

Tulburările metabolismului fierului constituie cauzele cele mai frecvente de anemie hipocromă, pe primul loc fiind anemia feriprivă.

Valoarea normală a fierului seric este de 90-160 μg%. Fierul seric se leagă de o beta-globulină specială, transferina. Concentrația fierului plasmatic reprezintă aproximativ 1/3 din capacitatea totală de legare a transferinei. Circulația fierului în organism este foarte activă: aproximativ 30 mg fier părăsesc plasma în 24 ore; din care 21 mg sunt încorporate în eritroblaşti (şi reticulocite). După distrugerea eritrocitară hemoglobina este descompusă de macrofage şi fierul ajunge din nou în plasmă sau poate intra în depozit sub formă de feritină (conglomerat de

hidroxifosfat feric şi o porţiune proteică: apoferitina) sau hemosiderina, un complex mai greu mobilizabil. Feritina se înmagazinează, în cea mai mare parte, în ficat; din acest motiv în maladiile care duc la lezarea ţesutului hepatic (ciroze hepatice, hepatita acută) fierul se eliberează şi concentraţia lui serică se ridică deseori peste 200 μg%.

Tulburările metabolismului fierului pot interesa oricare dintre verigile acestuia (absorbţie, transport, depozitare, utilizare, eliminare); cel mai adesea este sideropenia (deficitul cantitativ de fier).

Deficitul cantitativ de fier poate fi cauzat de aport alimentar insuficient, de malabsorbţie ca în cazul aclorhidriei sau gastrectomiei sau pierderi de sânge în hemoragii cronice (uterine, gastro-intestinale).

Simptomele anemiei hipocrome feriprive se instalează lent. Bolnavii prezintă astenie pronunţată, paloare „albă" (neicterică), dispnee de efort, senzaţii de palpitaţii, cefalee, sufluri cardiace. Intensitatea acestora este legată de valoarea hemoglobinei. În depleţia avansată de fier apare şi suferinţă celulară generală manifestată prin tegumente uscate şi aspre, leziuni atrofice şi inflamatorii la nivelul mucoaselor, limba roşie, leziuni esofagiene. În formele severe şi prelungite s-au pus în evidenţă şi tulburări neurologice.

Date de laborator. Examenul sângelui periferic evidenţiază microcitoză şi hipocromie (eritrocite „palide"), hiposideremie, creşte capacitatea de legare a fierului (CTLF). Feritina serică scade sub normal. Valoarea feritinei sub 30 μg/L indică întotdeauna absenţa depozitelor de fier şi este un indicator al deficitului de fier. Valorile fierului seric scad sub 30 μg/dL. MCV este cuprins între 50-82 fL.

În anemia feriprivă moderată, numărul de trombocite este normal, dar într-o anemie severă, aceasta creşte în mod caracteristic.

Numărul de leucocite şi trombocite este de obicei normal.

Anemiile megaloblastice. Acestea au la bază o tulburare a diviziunii celulare prin sinteza scăzută a acizilor nucleici datorită deficitului de acid folic sau de vitamină B_{12}, având ca rezultat o anemie prin hematopoieză ineficientă.

Dintre formele etiopatogenice ale deficitului de vitamină B_{12} pe primul loc se situează *anemia Biermer*, datorită lipsei de absorbţie, ţinând de absenţa factorului intrinsec. Dintre celelalte forme ale deficitului de vitamină B_{12} au importanţă clinică cele din rezecţiile gastrice totale, precum şi formele de consumare a vitaminei în intestin prin proliferare bacteriană anormală.

Toţi pacienţii cu anemie Biermer au o leziune gastrică ce variază de la gastrita atrofică severă până la atrofie gastrică.

Manifestări clinice. Debutul bolii este insidios. Tabloul clinic prezintă două grupe principale de semne: sindromul anemic şi tulburări gastro-intestinale.

Sindromul anemic se manifestă prin astenie, paloare cu subicter datorită creşterii bilirubinei indirecte, splenomegalie, sufluri cardiace.

Tulburările gastro-intestinale se manifestă prin: anorexie, greaţă, vomă, balonări, limba este roşie, dureroasă, uneori ulcerată (glosită Hunter).

Deficitul de vitamină B12 determină şi apariţia unui sindrom neurologic complex. Primii afectaţi sunt nervii periferici, bolnavii acuzând parastezii. În cazuri mai avansate pot să apară şi alte tulburări neuropsihice.

Date de laborator

În sângele periferic la microscop se observă eritrocite mici, cu forme neregulate, fragmentate.

Valorile hemoglobinei pot fi în limite normale la pacienţii investigaţi precoce, dar scad pe măsură ce deficienţa în vitamina B_{12} se accentuează. Se poate instala anemia severă cu un hematocrit ce scade până la 10-15%. MCV este cuprins între 100-150 fL.

Bilirubina indirectă şi LDH-ul sunt uşor crescute ca urmare a distrucţiei intramedulare a eritroblaştilor.

Pentru a stabili cu certitudine diagnosticul de anemie pernicioasa este necesar să se determine nivelul factorului intrinsec (F.I.) în sucul gastric. Absenţa factorului intrinsec sau nivelul scăzut al acestuia confirmă diagnosticul. Determinarea factorului intrinsec se face fie direct prin dozarea în sucul gastric după stimulare cu pentagastrină, sau indirect prin testul Schilling (Schilling 1953). Testul măsoară capacitatea individuală de absorbţie a ciancobalaminei administrată oral. Se administrează pacientului oral 1 μg ciancobalamină cu Co marcat şi se injectează concomitent 1 000 μg ciancobalamină neradioactivă, intramuscular. Vitamina B_{12} administrată i.m. va satura proteinele plasmatice transportoare, ca urmare se va elimina ciancobalamina neradioactivă în urină. Dacă excreţia urinară de ciancobalamină radioactivă este mai mică de 10% din cantitatea administrată oral, absorbţia vitaminei B12 se consideră deficitară. În anemia Biermer excreţia urinară este sub 5%. Pentru confirmarea testului bolnavului i se administrează oral factor intrinsec şi ciancobalamină marcată radioactiv. Dacă absorbţia vitaminei B_{12} creşte, demonstrează nivelul scăzut sau absenţa factorului intrinsec.

Anemiile hemolitice. Sunt stări patologice în care mecanismul de producere a anemiei este distrucţia eritrocitară crescută (hiperhemoliza).

Aceasta poate fi determinată fie de modificări structurale şi funcţionale ale hematiei (corpusculare), fie determinate de cauze exterioare hematiei (extracorpusculare).

Anemiile corpusculare pot fi determinate de anomalii ale membranei eritrocitare, de deficite enzimatice intraeritrocitare, de hemoglobinopatii. Anemiile hemolitice prin tulburări de sinteză a hemoglobinei pot ţine de tulburări de ordin calitativ (modificarea secvenţei aminoacizilor într-unul din lanţurile globulinice) cu modificări ale proprietăţilor fizico-chimice ale hemoglobinei (hemoglobinopatii) sau de ordin cantitativ şi anume sinteza scăzută a unuia din lanţurile de globină (talasemii).

Anemiile hemolitice extracorpusculare pot avea drept cauză acţiunea hemolizantă a unor substanţe administrate sau pătrunse accidental în organism, ca de exemplu veninul de insecte sau şerpi, toxine vegetale (saponina), sau bacteriene (hemolizinele streptococului beta-hemolitic).

Consecinţele biochimice ale hemolizei extravasculare

Ca urmare a distrugerii tisulare a hematiilor de către sistemul monocit-macrofag, hemoglobina este scindată în 3 elemente constitutive: *globina*, care este reutilizată în diverse sinteze, *fierul*, care va fi utilizat pentru sinteza altor molecule de hemoglobină şi *protoporfirina* care este degradată în bilirubină şi CO. Bilirubina fiind insolubilă în apă (B.I.) va fi transportată de către albumină la nivelul ficatului. În hepatocite B.I. suferă procesul de glicurono-conjugare rezultând bilirubina conjugată (B.D.). Ea se elimină prin bilă în intestin unde bacteriile intestinale o transformă în urobilinogen. O parte este reabsorbit (10-20%) şi intră în ciclul hepato-entero-hepatic, iar o cantitate mică se elimină prin urină (4 mg/zi). O altă parte se elimină prin fecale sub formă de stercobilinogen.

Când are loc o hemoliză puternică se va forma o cantitate crescută de B.I. care va depăşi capacitatea ficatului de a conjuga, ceea ce va duce la creşterea nivelului plasmatic al B.I.. Pe de altă parte, cantitatea de urobilinogen va fi crescută în urină şi în fecale, ceea ce va duce la hipercolorarea fecalelor şi a urinii.

În clinică, singurii parametrii de evaluare a distrucţiei eritrocitare sunt determinările bilirubinemiei şi a urobilinogenului urinar. Bilirubina se determină prin reacţia van der Berg cu acid sulfanilic diazotat, iar urobilinogenul prin reacţia Erlich cu p-dimetilamino-benzaldehida.

Consecinţele biochimice ale hemolizei intravasculare

Hemoglobina eliberată prin liza hematiilor este legată de o proteină specifică numită haptoglobină. Nivelul haptoglobinei, pe de o

parte, poate să scadă în cazul hemolizei extravasculare şi pe de altă parte datorită faptului că aceste complexe Hb-haptoglobină sunt captate rapid de hepatocite. Acest mecanism este limitat. Când cantitatea de hemoglobină eliberată în cursul hemolizei intravasculare depăşeşte capacitatea de legare a haptoglobinei, în plasmă se va găsi hemoglobină liberă. O parte din hemoglobina liberă se oxidează şi se disociază eliberând hemul feric care este transportat la ficat, preluat de alte două proteine plasmatice: hemopexina şi albumina. Hemoglobina şi particulele de hem care ajung la ficat sunt transformate în B.I. şi urobilinogen.

În hemolizele intravasculare intense aceste mecanisme pot fi depăşite, iar hemoglobina rămasă liberă (necuplată) se elimină prin glomerulii renali. La nivelul tubilor proximali are loc reabsorbția hemoglobinei urmată de scindarea ei în componente. Fierul eliberat este reținut de citoplasma celulelor epiteliale sub formă de *hemosiderină*. Dacă fluxul de hemoglobină este crescut, mecanismul retroreabsorbției este depăşit şi hemoglobina ajunge ca atare în urină.

Manifestări clinice

Simptomele sunt în funcție de severitatea anemiei şi de vârstă.

Simptomatologia este nespecifică şi include: astenie fizică şi psihică, palpitații, dispnee, dureri precordiale.

La examenul fizic se constată paloare, icter moderat. În anemiile hemolitice congenitale se pot observa şi deformații osoase datorită expansiunii țesutului eritropoetic în medulara oaselor frontale, parietale şi maxilare.

Date de laborator

- creşte B.I. şi urobilinogenul, care denotă o hemoliză accentuată a eritrocitelor. Bilirubina totală poate creşte până la 4 mg/dL:
- creşte LDH cu predominența izoenzimei LDH_2. Creşterile sunt mari în hemoliza intravasculară.
- creşte hemoglobinemia care imprimă culoare roz plasmei (observată la examinarea tubului pentru hematocrit şi confirmată spectroscopic)
- hemoglobinurie, semnalul unui puseu de hemoliză intravasculară intensă
- hemosidenurie.

Alte forme de anemii. Numeroase boli sistemice cronice se asociază cu o anemie uşoară sau moderată. Cauzele obişnuite sunt infecțiile sau inflamațiile cronice, cancerul şi afecțiunile hepatice. În anemia posthemoragică acută tulburările țin de scăderea bruscă a volumului sanguin.

Anemia din bolile renale poate avea mecanisme variate: tulburări de utilizare a fierului şi a acidului folic (în infecţii), hematuria, secreţia insuficientă de eritropoietină, cel mai frecvent însă, scăderea producţiei medulare.

În anemia din ciroza hepatică pot interveni (în afară de creşterea volumului plasmatic) şi alte forme, se exemplu, alcoolul inhibă măduva, blochează metabolismul folic şi favorizează hemoragiile.

Anemia din bolile endocrine (insuficienţă tiroidiană, hipofizară, gonadică, corticosuprarenală,) ţine, probabil, de o scădere a stimulării eritropoietice (prin scăderea consumului de oxigen); în mixedem se asociază adesea deficitul de fier (uneori şi de acid folic şi vitamina B_{12}).

Manifestări clinice sunt specifice unei anemii moderate.

Date de laborator

- Scade hematocritul, rareori sub 25%, cu excepţia insuficienţei renale.
- Sideremia scăzută.
- CTLF redus.

Poliglobulii (policitemii)

Poliglobuliile (policitemii) reprezintă creşteri ale cantităţii totale de eritrocite peste valorile normale; ele cuprind grupa *eritrocitozelor*, modificări reactive ale celulelor eritrocitare şi policitemia vera (boala Vaquez) care este o hiperplazie primară a sistemului eritroformator. Eritrocitozele pot fi: eritrocitoze relative, în care este scăzută cantitatea de plasmă circulantă, creşte hematocritul (hemoconcentraţie), fără creşterea volumului eritrocitar; şi eritrocitoze absolute care pot fi hipoxemice, în cazul unei hipoxii (afecţiuni cardice congenitale, în insuficienţă respiratorie, în cord pulmonar) şi nehipoxemice (prin creşterea foarte marcată a producţiei de eritropoietină).

Termenul de policitemie se utilizează de obicei când valoarea hematocritului este mai mare de 52% pentru bărbaţi şi de 47% pentru femei, creştere asociată cu creşterea hemoglobinei şi a numărului total de eritrocite.

Policitemia, indiferent de cauza care a produs-o, este însoţită de o creştere a vâscozităţii sanguine. Principalele simptome de hipervâscozitate se exprimă prin reducerea fluxului sanguin la nivelul cordului, a sistemului nervos central şi membrelor. Semnul fizic comun tuturor formelor de poliglobulii este colorarea în roşu-violaceu a tegumentelor şi mucoaselor (eritroză), mai evidenta la nivelul fetei, extremităţilor membrelor şi a conjunctivelor.

Poliglobulia de stres se întâlneşte de obicei la bărbaţii supraponderali, fumători, care pot prezenta hipertensiune arterială şi în antecedente au suferit de diverse accidente vasculare (tromboflebite).

Policitemia vera

Policitemia vera este o afecţiune mieloproliferativă dobândită care determină o hiperproducţie a tuturor celor trei linii celulare hematopoetice, mai importantă în linia eritrocitară.

Policitemia vera este o afecţiune relativ frecventă. Se manifestă în procent de 60% la bărbaţi, vârsta medie de debut fiind peste 60 de ani. Boala apare rar la adunţi sub 40 de ani.

Manifestări clinice

Bolnavii acuză cefalee, ameţeală începţoşarea vederii şi fatigabilitate. Pruritul generalizat, apărut în special după baie sau duş cald, poate fi un simptom caracteristic şi este datorat eliberării de histamină din numărul crescut de bazofile. În faza iniţială poate să apară şi epistaxisul. Examenul fizic evidenţiază splenomegalie şi dilatarea venelor retiniene.

Complicaţia cea mai frecventă este tromboza care este şi o cauză majoră de morbiditate şi deces, cauza fiind vâscozitatea sanguină crescută şi funcţia plachetară anormală.

Date de laborator

- hematocrit crescut, uneori depăşeşte 60%, creşte numărul de eritrocite,
- creşte vâscozitatea sângelui
- leucocitoză,
- trombocitoză,
- formula leucocitară de obicei este normală, dar poate apărea bazofilia şi eozinofilia,
- deficitul de fier în hemoragii gastrointestinale,
- nivelul vitaminei B_{12} este foarte crescut datorită cantităţii crescute de transcobalamină III, secretată de leucocite,
- fosfataza alcalină leucocitară este crescută,
- acidul uric crescut.

Producţia şi distrugerea eritrocitară se pot aprecia destul de exact prin metodele actuale de investigaţii hematologice cantitative, la care s-au adăugat explorările izotopice.

Principalele anomalii ale hemoglobinei

Pe lângă anemii, care se datoresc scăderii cantităţii de hemoglobină în sânge, ca urmare a dezechilibrului între producerea şi distrugerea ori pierderea eritrocitelor, pot apare o serie de anomalii care interesează structura şi viteza de sinteză a hemoglobinei. Acestea sunt

cunoscute sub forma a mai mult de 150 de variante, cu abateri ale structurii primare a hemoglobinei. Teoretic, anomaliile de structură a hemoglobinei ar putea fi împărțite în anomalii afectând predominant hemul, ca de exemplu methemoglobinemiile, şi anomalii afectând predominant globina, aşa cum sunt hemoglobinopatiile.

Maladiile în care structura hemoglobinelor este anormală, poartă numele de hemoglobinopatii. Mecanismul lor de producere este foarte complex:

a. Prin substituirea unuia sau a mai multor aminoacizi din anumite poziții. Este important de precizat faptul că substituirea unui singur aminoacid este capabilă să ducă la transformarea proprietăților hemoglobinei în asemenea măsură, încât să se poată vorbi de un alt tip de hemoglobină.

b. Prin lipsa unuia sau a mai multor aminoacizi.

Hemoglobinopatiile se împart în două categorii:

a. calitative în care anomalia genetică determină structura chimică anormală a moleculei de hemoglobină şi

b. cantitative în care anomalia priveşte doar rata de sinteză a unuia sau a mai multor lanțuri polipeptidice dintre care unele sunt prezente în structura normală.

a. Anomalii calitative. În această grupă sunt incluse câteva tipuri de anomalii genetice ale secvenței aminoacizilor din hemoglobină, cum sunt:

- Hemoglobina S produce anemia cu celule în formă de seceră. Chimic, se caracterizează prin înlocuirea acidului glutamic din poziția 6 a lanțului beta cu valină. Eritrocitele subiecților care suferă de această boală au forma normală în condițiile unei oxigenări normale. Puse însă în condiții de hipoxie severă, ele iau forma alungită şi încurbată, de seceră (fenomenul de siclizare).

Aproape toate tulburările din anemia cu celule în formă de seceră pot fi explicate prin proprietățile fizice ale hemoglobinei S reduse şi în particular, prin solubilitatea sa joasă la presiuni scăzute de oxigen.

- Hemoglobina D este identică cu hemoglobina S de care se deosebeşte prin faptul că nu prezintă fenomenul de siclizare.

- Hemoglobina C şi hemoglobina E

În aceste cazuri acidul glutamic este înlocuit de lizină. În cazul hemoglobinei C, mutația are loc în poziția 6 a lanțului beta, în timp ce în hemoglobina E, mutația se produce la poziția 26 a aceluiaşi lanț.

Toate aceste hemoglobine pot fi puse în evidență prin metode electroforetice şi electrocromatografice.

Hemoglobinele S, C, E şi o variantă de D sunt tipurile de hemoglobine anormale care apar la milioane de persoane care trăiesc în Africa şi Asia, rară în Europa, fiind cele mai comune cauze de hemoglobinopatii.

Methemoglobinemiile

Methemoglobinemiile se deosebesc substanţial de tipurile descrise mai sus, deoarece la acestea principala anomalie este situată la nivelul hemului. Aceasta poate fi determinată fie de alterarea structurii globinei, fie de defectul sistemelor reducătoare eritrocitare, fie de acţiunea unor factori exogeni.

Relaţia dintre hemoglobină şi oxigen diferă în cazul methemoglobinei, faţă de cel al hemoglobinei. În oxihemoglobină, oxigenul este legat reversibil de fier şi este eliberat de către ţesuturi îndată ce presiunea parţială a oxigenului scade. Methemoglobina însă nu poate elibera oxigenul, oricât de joasă ar fi presiunea parţială a acestuia în mediu. Numai o reacţie chimică poate desprinde oxigenul din methemoglobină, prin reducerea fierului (din feric în feros).

Apariţia în sânge a unor cantităţi patologic de mari de methemoglobină poartă numele de methemoglobinemie. Aceasta poate fi ereditară, ori dobândită.

Se întâlnesc situaţii ereditare în care methemoglobina care se produce în mod normal în eritrocit, încetează să mai fie redusă, din cauza unor deficienţe enzimatice.

Hemoglobina anormală, care determină methemoglobinemie din cauza anomaliei lanţurilor de globină, a fost denumită hemoglobină M.

Pe lângă methemoglobinemiile ereditare, există o categorie de methemoglobinemii dobândite. Agenţii cauzali ai acestora pot fi reprezentaţi de: nitriţi ori alţi oxidanţi direcţi: agenţi terapeutici (nitroglicerină, nitrit de sodiu, nitrat de amoniu, nitrat de Ag, nitrit de amil), alimente tratate cu nitraţi etc.

Toate hemoglobinele anormale, pot produce grade variate de boală.

Hemoglobinopatii cantitative

În afara hemoglobinopatiilor calitative, se întâlnesc unele stări în care lanţurile de hemoglobină sunt structural normale, dar sunt sintetizate în cantităţi anormale. Anomalia este în aceste cazuri, nu la nivelul genelor structurale, ci la nivelul genelor reglatoare ale ratei sintezei lanţurilor de globină. Defectul acestor gene determină scăderea sau lipsa sintezei unor lanţuri şi producerea altora în exces. Grupul bolilor derivate din acest tip de defecte poartă numele convenţional de talasemii, după denumirea primei dintre bolile descrise în această categorie.

Talasemiile

Sunt afecţiuni ereditare, transmise după model autosomal care conduc la un deficit de sinteza a lanţurilor globinice.

In funcţie de lanţul de globina care prezintă defectul cantitativ de sinteza, talasemiile sunt clasificate in doua grupuri principale:

- alfa-talasemiile şi beta-talasemiile.

Din punct de vedere clinic se descriu forme severe (majore), forme uşoare (minore), forme asimptomatice sau minime şi forme intermediare.

În *beta-talasemia* majoră simptomele clinice apar după vârsta de 6 luni. Această boală nu este prezentă la naştere deoarece producţia de hemoglobină fetală (HbF) nu este afectată. Sugarul devine anemic în momentul în care HbF trebuie să fie înlocuită cu hemoglobina adultă (HbA). Incapacitatea de a produce lanţul beta conduce la un exces de lanţ alfa, care precipită în eritroblaşti aceştia devenind ineficienţi din punct de vedere funcţional şi vor fi fagocitaţi de sistemul monocit-macrofag din măduva osoasă. Hematiile care conţin precipitate de lanţuri alfa şi care ajung în sângele periferic vor avea o durată de viaţă scurtă fiind recunoscute ca imperfecte de către sistemul monocit-macrofag şi fagocitate. În consecinţă, datorită unei eritropoeze medulare ineficiente şi a unei hemolize periferice, se instalează anemia severă (sub 7 g Hb/dL).

Semnele clinice caracteristice sunt: paloare cu tentă icterică, întârzierea în dezvoltare, abdomen mărit datorită hepatosplenomegaliei şi modificări scheletale.

Datele de laborator evidenţiază anemia severă, sideremia crescută, capacitatea de legare a fierului este scăzută, transferina fiind aproape complet saturată.

Sideremia este crescută, pe de o parte datorită fierului absorbit din intestin şi pe de alta parte, datorită politransfuzării regulate a pacientului. Aceasta conduce la apariţia hemosiderozei.

Depozitarea fierului conduce la disfuncţii endocrine cu tulburări de creştere şi o dezvoltare insuficienţă a caracterelor secundare sexuale, la ciroza hepatică, leziuni miocardice cu aritmii, insuficienţă cardiacă congestivă.

Beta-talasemia minoră este bine suportată, poate fi asimptomatică, sau poate prezenta o anemie hemolitică uşoara (paloare, subicter, splina palpabila).

Concentraţia de hemoglobină este fie normal, fie uşor redusă. Nivelul HbA_2 este crescut până la 7%, uneori se întâlnesc şi cazuri cu creşteri moderate ale HbF (1-5%).

Sideremia, capacitatea de legare a fierului şi cantitatea de feritină sunt normale, în absenţa unei alte maladii care ar provoca pierderea fierului.

Ht este cuprins între 28-40%. Frotiul periferic evidenţiază microcitoză, hipocromie. Sunt prezente granulaţiile bazofile.

Talasemia intermediara include cazuri homozigote cu evoluţie mai blândă, cu stare generală relativ bună. Aspectele clinice includ anemie, splenomegalie, modificări osoase.

β-talosemia majoră prezintă anemie severă, Ht sub 10%, HbA este absentă sau în cantităţi mici. Frotiul periferic evidenţiază microcitoză, hipocromie, poikilocitoză severă.

Leucocitele

Leucocitele (White Blood Cells; WBC) sunt celule nucleate, mobile, cu roluri deosebit de importante în procesele de apărare, prin fagocitoză, producere de anticorpi şi distrugerea toxinelor de origine microbiană.

Metabolismul energetic leucocitar este asigurat prin catabolismul glucidelor şi al lipidelor; o proporţie de 1-2% din greutatea leucocitelor este reprezentată de glicogen, care scade rapid în timpul fagocitozei, în timp ce glicoliza, consumul de oxigen, sunt activate.

În leucocite s-au pus în evidenţă pe cale electroforetică cele 5 izoenzime ale LDH precum şi 2 forme ale malatdehidrogenazei. S-au mai pus în evidenţă arginaza, aspartat amino-transferază, fosfatază alcalină.

Există de asemenea indicii certe asupra unei sinteze active de proteine în leucocite; ele conţin aminoacizi liberi.

În metabolismul leucocitelor normale şi leucemice nu au fost încă decelate diferenţe esenţiale, care să fundamenteze căi terapeutice specifice. În diagnosticul varietăţii de leucoză însă, în afară de criteriul morfologic, se foloseşte în prezent, tot mai mult, comportamentul enzimatic predominant al unor categorii de leucocite care tind să modeleze şi terapia diferenţială a leucozelor.

Numărul leucocitelor din sângele circulant variază între 5 000-8 000/mm^3.

Variaţii fiziopatologice

Creşterea numărului total de leucocite peste 10 000/mm^3 se numeşte ***leucocitoză***. Există o leucocitoză fiziologică şi una patologică.

Cauzele frecvente ale leucocitozei fiziologice sunt: emoţii puternice, stresuri, durere, efort fizic susţinut, graviditate, tratament cu doze mari de corticosteroizi, anestezie, injecţii cu adrenalină etc.

Creşterea patologică a leucocitelor poate surveni din următoarele cauze: boli infecţioase microbiene, afară de febra tifoidă şi paratifoidă; după o necroză tisulară, în infarct, în tumori, după intervenţii chirurgicale; după hemoragii mari şi în caz de hemoliză, în uremie, în comă diabetică şi în timpul acceselor de gută. Leucocitoza cea mai pronunţată o găsim în leucemie, când numărul de leucocite este peste 15 000/mm^3 şi pot depăşi 150 000/mm^3, în formula leucocitară găsindu-se celule tinere ale seriei albe din măduva hematopoietică.

Leucopenia sau scăderea numărului de leucocite sub 3500/mm^3 se întâlneşte în: unele boli infecţioase (infecţii virale ca gripă, oreion, rujeolă, varicelă, hepatită acută; infecţii bacteriene ca febra tifoidă şi paratifoidă), bolile organelor hematopoietice, septicemie şi boala de iradiaţie.

Tabloul sanguin calitativ

Tabloul sanguin calitativ conţine următoarele date:

a. exprimarea în procente a diferitelor tipuri de leucocite;

b. apariţia unor leucocite imature sau modificate patologic.

Executarea tabloului sanguin calitativ şi citirea lui este o problemă mai laborioasă şi nu se efectuează în toate afecţiunile; de exemplu, în bolile aparatului locomotor, în diabet etc, nu putem aştepta ca tabloul sanguin calitativ să ne furnizeze date interpretabile din punct de vedere diagnostic. Dimpotrivă, este foarte importantă efectuarea acestei examinări în bolile infecţioase şi alergice, precum şi în suspiciunea îmbolnăvirii organelor hematopoetice; în orice caz, ea trebuie efectuată când numărul leucocitelor este mai mare de 10 000 sau mai mic de 5 000/mm^3.

Determinarea formulei leucocitare permite stabilirea proporţiilor dintre diferitele serii leucocitare în sângele periferic. În mod normal, majoritatea celulelor o constituie granulocitele segmentate (55 - 65%), nesegmentatele fiind de 10 ori mai puţine (1-4%); granulocitele eozinofile reprezintă 1 - 4%, iar cele bazofile până la 1% din formulă. Limfocitele reprezintă 20 - 40% iar monocitele 4 - 8%.

Seria granulocitară

Celulele acestei serii sunt caracterizate prin apariţia în citoplasma lor de granulaţii, la început nediferenţiate şi pe măsură ce se produce maturaţia, diferenţiate, fie în granulaţii neutrofile, fie azurofile, fie în bazofile. De aici şi numele de serie granulocitară.

Granulocitele citoplasmatice conţin lizozomii încărcaţi cu hidrolaze şi enzime oxidative, având rol de fagocitoză. De menţionat că în seria granulocitară este prezentă fosfataza alcalină ale cărei variaţii cantitative însoţesc anumite procese patologice: creşte în infecţii şi scade în leucoza granulocitară cronică.

Granulocitul nesegmentat. În cursul maturaţiei nucleul reniform se subţiază şi se alungeşte luând forma de potcoavă.

Granulocitul segmentat. Aceste celule, denumite impropriu polinucleare au nucleul polisegmentat. Cu cât celula este mai matură, cu atât are mai multe segmente.

În sângele periferic se întâlnesc granulocitele segmentate şi un mic număr de granulocite nesegmentate, care nu depăşesc 4% din totalul granulocitelor din periferie.

Granulocitele neutrofile (polimorfonucleare neutrofile) sunt produse în măduva osoasă într-un interval de timp de 12 zile.

Au un diametru de 10-15μ.

Ceea ce caracterizează granulocitele neutrofile este mobilitatea. Deplasându-se cu 2-3 mm/oră prin emitere de pseudopode sunt primele care ajung la poarta de intrare a agenților patogeni.

Funcția cea mai importanta a neutrofilelor este fagocitoza. Ele captează şi distrug prin fagocitoza particulele mici, in special bacterii. Digestia intracelulara este asigurata nu numai de către enzimele lizozomale ci şi datorita formarii apei oxigenate. Neutrofilele pot fagocita 5-20 germeni. Când numărul germenilor este mai mare, se produce degranularea, neutrofilul devine inactiv şi moare.

Din punct de vedere citochimic neutrofilele conțin fosfatază alcalină, glucuronidază, lizozim, nucleotidaze şi ribonuclează, un ester al acidului hialuronic. Granulațiile neutrofilelor conțin de asemenea o cantitate importantă de glicogen, urme de fosfatază acidă şi fagocitină, o substanță intens bactericidă.

Valoarea normală a neutrofilelor nesegmentate este de 50-250/mm^3 iar a celor segmentate 2 500-5 500/mm^3.

În clasificarea patologiei seriei granulocitare se deosebesc modificări cantitative (granulocitoze şi granulocitopenii) şi anomalii calitative şi o categorie aparte se rezervă pentru bolile proliferative (leucemii granulocitare).

Neutrofilia reprezintă creşterea numărului de neutrofile şi apare în mod patologic în infecții generale şi locale, tumori maligne, intoxicații, leucemie granulocitară cronică.

Neutropenia (scăderea numărului de neutrofile) apare în infecții bacteriene (febra tifoidă, paratifoidă), infecții virale (gripă, rubeolă, rujeolă). Tot mai importantă devine problema neutropeniilor medicamentoase.

Granulocitele eozinofile au un diametru de 10-16 μ. Citoplasma prezintă granulații sferice sau ovale care au afinitate pentru eozină, egale între ele, şi reprezintă lizozomii, cu un bagaj enzimatic bogat: oxidaze, peroxidaze, catalază, fosfatază alcalină, lipază, amilază. Ele sunt bogate în lipide. Durata lor medie de viață este de 5-8 ore. Au ca şi neutrofilele proprietatea de a se mobiliza sub influențe chemotactice, de a traversa peretele vascular prin diapedeză şi de a fagocita.

Eozinofilele conţin o proteină bazică bogată în arginină cu rol în apărarea împotriva paraziţilor, o peroxidază eozinofilică ce eliberează peroxid de hidrogen care distruge microorganismele şi o proteină de tip neurotoxic cu acţiune neurotoxică marcată. Eozinofilul mai produce leucotriene (C4) mediatori ai inflamaţiei şi factor activator al trombocitelor.

Funcţional, eozinofilele sunt strâns corelate cu procesele alergice. Funcţia lor principală pare să fie fagocitarea complexelor antigen-anticorp şi îndepărtarea histaminei eliberate de bazofile în cursul inflamaţiei alergice.

Valoarea normală a eozinofilelor este cuprinsă între 100-200/mm^3.

Eozinofilia este creşterea proporţiei de eozinofile mature peste 5%. Cauzele eozinofiliei sunt bolile parazitare, alergice, leziuni dermatologice destructive, boli maligne ale ţesutului hamatopoetic.

Eozinopeniile apar în stările de stress, după administrare de corticosteroizi şi în prima fază a infecţiei acute.

Granulocite bazofile şi mastocite. Ambele au originea într-o celulă suşă comună. Au rol în producerea şi depozitarea unor substanţe: histamina, heparina şi numeroase enzime. În citoplasmă sunt prezente granulaţii cu afinitate pentru coloranţii bazici. Mastocitul este prezent în ţesuturi dar lipseşte în sângele periferic. Se deosebeşte morfologic de bazofil fiind o celulă rotundă cu un nucleu tot rotund, cu numeroase granulaţii care acoperă citoplasma şi nucleul. Funcţia lor nu este complet elucidată, dar se ştie că generează mediatori care influenţează procesele inflamatorii.

Mastocitele şi bazofilele joacă rol important în unele tipuri de reacţii alergice, deoarece anticorpii care determină reacţiile alergice IgE, au tendinţa specială de a se ataşa de acestea. Când antigenul specific reacţionează cu anticorpul, mastocitele şi bazofilele se rup şi eliberează cantităţi mari de histamină, bradikinină, serotonină, heparină şi un mare număr de enzime lizozomale. Acestea produc reacţii locale vasculare şi tisulare, care reprezintă cauza manifestărilor alergice.

Bazofilia se întâlneşte în boli alergice, boli infecţioase (rujeola, rubeola, sinuzita cronică), în boli mieloproliferative cronice, leucemia granulocitară cronică, policitemia vera.

Limfocitele

Prin cercetările ultimelor decenii s-au realizat progrese importante în cunoaşterea mecanismelor imunităţii şi al rolului complex al limfocitului în cadrul acestora.

Limfocitele sunt celule mici cu citoplasma puţin abundentă, sub formă de semilună, cu un conţinut mare de ARN, un nucleu mare, intens

colorat şi un nucleol bine diferenţiat, legat de sinteza de proteine. Limfocitele se formează în sistemul limforeticular (timus, măduva osoasă, ganglioni limfatici, splină, ţesutul limfatic al tubului digestiv, amigdale). Ele ajung în circulaţie pe cale limfatică.

Spre deosebire de neutrofile care odată ce părăsesc sângele nu se mai reîntorc, limfocitele recirculă (organe limfatice-limfă-sânge-ţesut-limfă). În sângele periferic circulă numai 4% din populaţia limfocitară, circa 70% se află în organele limfatice, 10% în măduva oaselor şi restul în alte ţesuturi.

Durata de viaţă a lor permite diferenţierea a două grupe de limfocite:

a. grupul cu durată de viaţă scurtă (7-12 zile) care reprezintă aproximativ 10% din limfocite şi care cresc îndeosebi în leucoza limfatică cronică şi în boala Hodgkin, în care există o producţie limfocitară mare, dar cu viaţă scurtă;

b. grupul de limfocite cu durată de viaţă lungă (500-800 zile), reprezentând circa 90% din total.

Dispariţia limfocitelor se realizează pe trei căi: transformarea în alte celule (ex. imunoblaşti, plasmocite), eliminarea spre lumenul intestinal şi distrugerea care are loc în special în centrii germinativi limfatici.

În sângele periferic există următoarele tipuri de limfocite:

- limfocite T (65-80%)
- limfocite B (10-20%)
- celule nule (2-10%) care cuprind: celulele K (*Killer*-ucigaşe), celulele NK (*natural Killer*-natural ucigaşe), celulele LAC (*limphochine activated Killer*-celule ucigaşe activate de limfokine) şi celule LGL (*large granular lymphocyles*-limfocite granulare mari).

Subdiviziunea celulelor imunologic active în celule B şi T derivă din constatarea că două organe centrale sunt decisive în geneza lor: timusul (T) şi măduva osoasă (B). S-a constatat că timocitele (limfocitele T) fixează la suprafaţa lor cantităţi minime de imuno-globuline, pe când limfocitele B au concentraţii foarte ridicate. Deşi din punct de vedere morfologic limfocitele T şi B sunt identice, practic imposibil de diferenţiat, ele se deosebesc atât funcţional cât şi antigenic. Mai mult, chiar în cadrul claselor T şi B există subclase cu proprietăţi funcţionale şi antigenice diferite.

Limfocitele T reprezintă principalele celule ale sistemului imun participând direct la răspunsul imun celular. Ele reprezintă baza morfologică a memoriei imunologice.

Limfocitele T au funcții multiple: mediază imunitatea celulară împotriva virusurilor, fungilor, micobacteriilor, resping grefele de organe incompatibile, controlează funcțiile limfocitelor B, cooperează cu celulele B în producerea de anticorpi specifici.

Limfocitele T sunt legate de imunitatea celulară (cu acumularea limfocitelor efectoare la locul „conflictului". Limfocitele T posedă şi ele în membrana lor receptori specifici pentru antigene, diferiți de receptorii limfocitelor B şi în cazul limfocitelor T există numeroase clone individualizate prin capacitatea de a interacționa specific cu un anumit antigen. Imunitatea celulară a limfocitului T se realizează prin două modalități: producția de limfokine şi activitate citotoxică.

Limfokinele sunt „mediatorii" celulari cu structură variată care exercită efecte asupra unor celule „țintă". Activitatea citotoxică a limfocitelor T exercită un efect de citoliză, de moarte a celulei „țintă". Prin mecanisme citotoxice sunt îndepărtate din organism unele microorganisme bacteriene, viruşii, celulele tumorale neoplazice etc.

Limfocitele T nu reprezintă o clasă celulară omogenă, ea este extrem de heterogenă actualmente distingându-se următoarele subclase de limfocite T: limfocite T helper (ajutoare) Th, amplificatoare T_A, supresoare T_S, contrasupresoare T_{CS}, citotoxice T_C şi de super-sensibilitate de tip întârziat T_D.

Diferențierea lor nu poate fi făcută pe baza unor criterii morfologice, unica soluție fiind evidențierea markerilor sau receptorilor de membrană reprezentativi pentru fiecare tip celular în parte cu ajutorul anticorpilor monoclonali (Amc).

Subclasa de *limfocite T helper* (Th) inițiază răspunsul imun prin proliferare şi ajută celulele B şi celelalte celule T la îndeplinirea funcțiilor în răspunsul imun şi inflamator. Limfocitele T helper activate produc o multitudine de citochine care sunt necesare pentru activarea, proliferarea şi diferențierea tuturor celulelor implicate în răspunsul imun. Ajută la amplificarea producției de plasmocite din limfocitele B.

Există două subpopulații de limfocite Th (Th_1 şi Th_2) care se deosebesc prin capacitatea de producere a unor citokine şi prin caracterul unor funcții de apărare pe care le efectuează.

Celulele T Killer sau citotoxice (Tc) efectuează recunoaşterea antigenilor pe anumite celule pe care le poate distruge direct fără altă intervenție. Ele distrug celula țintă prin liză osmotică, prin secreție de factor de necroză tumorală (FNT)sau prin introducerea apoptozei, adică moarte programată a celulei.

Limfocitele T supresoare (Ts) sunt considerate ca celule care modulează formarea de anticorpi şi imunitatea celulară într-o manieră specifică dependentă de antigen.

Celulele T amplificatoare (T_A) activează selectiv diferenţierea şi multiplicarea celulelor B care exprimă anumiţi receptori de membrană pentru antigene.

Limfocitele B asigură imunitatea umorală şi producerea de anticorpi. Pe suprafaţa lor membranară prezintă imunoglobuline IgM şi IgD, în mai mică măsură IgA şi IgG.

Este important faptul că fiecare celulă (sau clonă de celule B) are propria ei specificitate de interacţiune cu un anumit antigen.În urma unui stimul antigenic, limfocitele B se transformă în plasmocite producătoae de imunoglobuline specifice (anticorpi specifici).

O serie de antigene pătrunse în organism se leagă de imunoglobulinele de pe limfocitele B şi formează complexul antigen-anticorp care va fi prezentat limfocitelor T helper (proces întâlnit în răspunsul imun umoral).

Celulele nule. În afară de limfocitele T şi B există o categorie de celule care nu aparţin nici uneia din aceste categorii deoarece nu posedă receptori pentru antigen nici de tip imunoglobulinic nici receptori pentru antigen ca cei ai limfocitelor T.

Dintre acestea *celulele K* care dacă antigenul se găseşte pe suprafaţa unei celule şi este legat de anticorpul specific, au proprietatea de a se lega de anticorpii respectivi şi pot liza celula prin contact direct.

Celulele LK sunt implicate în special în imunitatea antitumorală şi antivirală. Ele sunt capabile să recunoască şi să distrugă o celulă tumorală, ele reuşind să facă o distincţie netă între celulele normale ale organismului şi celulele tumorale. Ele sunt activate de interferon.

Celulele LAK au o importantă activitate antitumorală şi provin din stimularea repetată a celulelor NK sau a unor fracţiuni din celulele NK cu interleukina 2.

În microscopia optică uzuală, toate tipurile de limfocite, în stare de repaus, au aspect morfologic aproape identic, sunt greu de deosebit.

Repartizarea tipurilor de limfocite în organele limfatice este diferită. Astfel, limfocitele T sunt mai abundente în limfoganglioni, iar limfocitele B predomină în formaţiunile limfatice din tubul digestiv. Dar peste tot coexistă diverse tipuri de limfocite.

Valoarea normală a limfocitelor: 1 200-2 400/mm^3.

Creşterea numărului de limfocite se numeşte *limfocitoză* şi survine în unele boli cronice: tuberculoză, sifilis, unele infecţii virale (parotidită epidemică), rujeola, rubeola, în infecţii bacteriene (tuse

convulsivă), în boli maligne (leucemie limfatică cronică, limfoame maligne nehodkiniene cu tablou leucemic, boala Waldentröm)

Scăderea numărului de limfocite se numeşte *limfopenie* şi apare sub influenţa hormonilor glucocorticoizi.

Monocitele

Sunt celule mari, cu granulaţii foarte fine, produse în măduva osoasă şi în organele limfopoetice, rămân în circulaţie doar 24 de ore după care migrează în ţesuturi, se transformă în *macrofage* şi fagocitează intens bacterii, resturi celulare mari şi celule sanguine îmbătrânite.

Celulele monocite-macrofag sunt localizate în ganglionii limfatici, splină, măduva osoasă, la nivelul tuturor seroaselor (pleură, pericard, peritoneu), piele, plămân, ficat, sistem nervos central.

Din punct de vedere enzimatic se caracterizează prin conţinutul lor bogat în esteraze.

Atât monocitele cât şi macrofagele au proprietatea de a secreta compuşi cu activitate bactericidă (lizozimul) sau antivirală (interferon). Macrofagele secretă şi interleukina-1, factor stimulator al activării şi diferenţierii limfocitelor în plasmocite. Ele au efecte citotoxice la nivelul celulelor tumorale.

În mod normal se găsesc între 300-640 monocite/mm^3.

Creşterea numărului de monocite se numeşte *monocitoză* şi ea este extrem de frecventă într-un număr mare de boli, îndeosebi în infecţii şi în bolile parazitare. Proliferările seriei monocit şi macrofag pot fi benigne sau maligne. Monocitoza traduce excitarea sistemului reticulo-histocitar, constatată mai cu seamă în reticulozele proliferative acute sau cronice. Printre reticulozele proliferative acute se pot enumera: febra tifoidă, tifosul exantematic, reumatismul articular acut, boli parazitare (malaria), boala lupică. Dintre bolile neoplazice: leucemia mielomonocitară, boli limfoproliferative şi mieloproliferative.

Monocitoza poate să apară în puseuri în cursul acestor afecţiuni şi poate varia de la o zi la alta, sau chiar în decurs de câteva ore.

Date de laborator în anomalii ale leucocitelor

Leucocitele circulante pot prezenta, în multe stări patologice, modificări morfologice, funcţionale sau numerice. Simpla numărare a leucocitelor şi aprecierea lor morfologică pot aduce date importante pentru stabilirea diagnosticului.

Leucocitoza

Prezintă creşterea peste valorile normale (peste 10 000/mm^3) a leucocitelor neutrofile, eozinofile, bazofile, limfocite, monocite.

Leucocitoza cu neutrofilie poate fi:

- *fiziologică* în stress emoţional, sarcină, lactaţie şi *patologică* în:
  - infecţii acute bacteriene (în special cu germeni piogeni), virale, fungice sau parazitare;
  - inflamaţii acute: boli de colagen, poliartrita reumatoidă, arsuri, infarct miocardic sau pulmonar;
  - hemoliză;
  - tulburări metabolice: diabet cu cetocetoză, guta, uremie;
  - boli maligne: leucemie mieloidă, metastaze cu carcinom.

Leucocitoza cu eozinofilie se întalneşte în:

- *infestări parazitare* (trichineloza, giardioza, scabia, ascaridoza), *boli alergice*, *boli de piele* (eczeme, psoriazis, dermatită), *boli maligne* (boala Hodgkin, carcinoame cu metastaze).

Uneori eozinofilia asociată cu anemie şi trombocitopenie apare într-o afecţiune numită *sindrom eozinofilic.* Ca aspecte clinice se remarcă: febra, transpiraţii nocturne, splenomegalie, pierderi ponderale, leziuni cardiace, pulmonare şi ale sistemului nervos.

Limfocitoza se caracterizează prin creşterea în formula leucocitară a numărului de limfocite cu peste 35% din totalul leucocitelor.

Limfocitoza este răspunsul organismului la numeroase infecţii virale şi bacteriene.

Infecţii virale cu limfocitoză: rujeola, rubeola, varicela, hepatita virală acută, mononucleoza infecţioasă.

Infecţii bacteriene: tusea convulsivă, tuberculoza şi sifilisul.

Limfocitoza se mai întalneşte în leucemie limfatică cronică, limfoame maligne, boala Waldenström.

Mononucleoza infecţioasă (febra ganglionara) este produsă de virusul Epstein-Barr care infectează celulele epiteliale ale nazofaringelui şi limfocitelor B.

Virusul este prezent în salivă şi poate fi transmis prin strănut sau prin sărut („boala sărutului"). Perioada de incubaţie este de 5-7 săptămâni. Aproximativ 90% din adulţi au anticorpi induşi de prezenţa virusului Epstein-Barr fiind infectaţi în timpul copilăriei. Anticorpii împotriva proteinelor produse de virus persistă mulţi ani şi oferă imunitate pentru o perioadă lungă de timp.

Manifestări clinice

Debutul bolii este asemănător oricărei boli infecțioase acute.

Simptomele comune sunt astenia fizică, cefaleea, anorexia, greața, febra. Amigdalita şi faringita sunt prezente în 70-90% din cazuri, la fel şi adenopatia cervicală. Aproximativ jumătate din bolnavi pot prezenta splenomegalie.

Date de laborator. În sângele periferic se constată o creştere a numărului de limfocite peste normal cu aspect morfologic anormal, cu o citoplasmă abundentă, cu nucleu mare, împins spre periferia celulei, uneori atingând marginile acesteia dând aspect de „celula drapel". Aceste celule anormale sunt limfocite T care au reacționat împotriva limfocitelor B infectate care prezintă la suprafața lor antigene virale (numai limfocitele B au receptori pentru viruşi).

Limfoamele maligne

Sunt tumori maligne ale celulelor sistemului imun, localizate în diverse țesuturi. Dintre limfoamele maligne, formele majore sunt boala Hodgkin şi limfoamele nehodgkiene.

Boala Hodgkin

Boala Hodgkin este o afecțiune malignă a sistemului limfo-histocitar. Boala se caracterizează printr-o proliferare celulară malignă a limfocitelor, din care o parte devin gigante, poliploide (celule Reed - Sternberg). Față de acestea se produce o reacție a limfocitelor T, precum şi o reacție de aspect granulomatos la nivelul sistemului limfatic, mai ales în limfoganglioni. Celula *Reed - Sternberg* ar putea avea origine în limfocitul B sau T şi, în cazuri rare, celula de tip monocit. Este posibil ca în boala Hodgkin originea celulei să difere în funcție de variatele tipuri de boală.

Cauza bolii Hodgkin nu este cunoscută. Se constată că incidența granulomatozei maligne este mai crescută la persoanele care au fost în contact direct cu bolnavul. Caracterele inflamatoare ale granulomului hodgkinian sunt atribuite reacției de apărare tisulară. Astăzi, se admite originea neoplazică având în vedere evoluția ireversibilă şi caracterul sarcomatos.

Manifestări clinice

Debutul este adesea insidios, cu dezvoltarea lentă a adenopatiei, predilect în regiunea cervicală sau subclaviculară. Inițial, în majoritatea cazurilor, boala se manifestă într-o formă localizată, apoi,

tabloul clinic este completat prin afectarea unor organe. Astfel debutul poate fi ganglionar sau extraganglionar (ficat, splină, stomac, măduvă osoasă). Când debutul este ganglionar, superficial, la examenul fizic se constată, în majoritatea cazurilor, ganglioni grupați, cu consistență crescută, duri, nedureroşi, de dimensiuni medii sau mari, deformând regiunea respectivă. La jumătate din bolnavi se observă splenomegalie.

O altă formă de debut este cea în care există semnele majore de evoluție a bolii: febră, pierdere ponderală, transpirații profuze. Febra poate dura câteva săptămâni, fiind urmată de perioade a afebrilitate. Aceste semne sunt specifice persoanelor în vârstă şi la cei cu boală avansată, în stadiul III şi IV.

Alte forme de debut pot fi: durere toracică, dureri osoase rezistente la antialgice, dispnee, leziuni neurologice, prurit.

Bolnavii sunt predispuşi la infecție din cauza diminuării funcțiilor imunitare ale limfocitelor. Poate fi diminuată şi funcția plasmocitelor şi apar hipogamaglobulinemii. În stadii avansate, aspectul de neoplazie sistemică este foarte pronunțat. Adenopatia este generalizată, de dimensiuni considerabile, formând pachete ganglionare. Se produc hepato- şi splenomegalii voluminoase cu infiltrate pulmonare, hepatice, gastrice, renale.

Date de laborator

Anemie moderată, monocromă cu sideremie scăzută şi cu capacitate crescută de legare a siderofilinei.

- Leucocitoză moderată.
- Eozinofilie moderată mai ales la pacienții cu prurit.
- Număr scăzut de limfocite (limfopenie sub 1 000 limfocite/mm^3).
- Trombocitoză moderată.
- VSH-ul este crescut, cel mai bun test de urmărire a evoluției bolii.
- Hipergamaglobulinemie, dar uneori pot fi şi hipogamaglobulinemii accentuate.
- Cresc α_2 - globulinele.
- Creşte fibrinogenul.
- Creşte proteina C reactivă.
- Creşterea cupremiei şi celuroplasminei pot fi sugestive.
- Creşte calciul seric.
- Creşte acidul lactic în ser.
- Creşte LDH-ul şi fosfataza alcalină serică.

Diagnosticul de boală Hodgkin este susținut de examenul histopatologic (punerea în evidență a celulelor Reed - Sternberg), rezonanță magnetică nucleară, scintigramă, ultrasonografie, laparotomie etc.

Limfoamele non Hodgkiniene

Limfoamele maligne nehodgkiniene totalizează 2/3 din neoplaziile limfoganglionare. Pentru cele mai multe limfoame maligne nu a fost identificată o cauză specifică. Totuşi, câteva tipuri de limfoame nehodgkiniene au fost asociate cu o etiologie virală (virusul Epstein - Barr).

Limfoamele maligne pot să apară şi în legătură cu o varietate foarte mare în dezordini imunologice.

Uneori, în boala Hodgkin, ca o complicaţie a chimioterapiei agresive şi a radioterapiei poate să apară un limfom malign nehodgkinian. Se mai presupune că o stimulare antigenică cronică, cum este cea dată de unele medicamente (Fenitoina) sau cea din bolile inflamatorii intestinale, ar putea predispune la apariţia limfoamelor maligne.

Majoritatea limfoamelor maligne nehodgkiniene sunt cu limfocit B (60-70%) şi un procent mic cu limfocit T.

Manifestări clinice

Debutul clinic poate fi ganglionar sau extraganglionar. Debutul ganglionar poate fi unic sau multiplu. Se consideră că orice ganglion de consistenţă dură, rotund, cu diametru mai mare de 1 cm, care nu a apărut în legătură cu o infecţie evidentă şi care persistă mai mult de 4 - 6 săptămâni trebuie biopsat. Debutul extraganglionar include limfoame gastro - intestinale, hepatice, splenice, osoase, pulmonare, ovariene, rinichi, sân. Limfoamele gastro - intestinale prezintă manifestări clinice nespecifice, dureri epigastrice vagi, greaţă, vomă, anorexie. Adesea, se confundă cu carcinomul gastric. Limfoamele intestinale debutează printr-un sindrom de malabsorbţie datorită atrofiei vilozităţilor şi a infiltrării ţesutului limfoid.

Limfoamele nehodgkiniene au fost *clasificate*, pe parcursul anilor, după mai multe criterii. Clasificarea cea mai veche, care este încă acceptată, este în:

- limfom gigantofolicular;
- limfosarcom;
- reticulosarcom.

Ultima clasificare internaţională, care oferă „schema de lucru" pentru clinician, histopatolog şi imunopatolog ţine cont de mărimea limfocitului, aspectul morfologic al nucleului şi prezenţa sau absenţa unor modificări în citoplasmă.

Clasificarea internaţională histologică a limfoamelor nehodgkiniene:

- limfoame cu evoluție benignă;
- limfoame cu evoluție clinică intermediară;
- limfoame cu evoluție severă.

Din punct de vedere clinic, la fel de importantă ca şi clasificarea histologică este şi stadializarea bolii care se face după criteriile Ann Arbor.

Stadiul I-afectarea unui singur ganglion sau un organ extraganglionar supra-sau sub diafragm.

Stadiul II-afectarea a doi sau mai mulți ganglioni de aceeaşi parte a diafragmului sau două organe extraganglionare de aceeaşi parte a diafragmului.

Stadiul III-afectarea ganglionilor supra - şi subdiafragmatici sau afectări extraganglionare supra - şi sub diafragmă.

Stadiul IV-afectarea de tip diseminat (cu mai mulți noduli tumorali) a unuia sau mai multor organe extralimfatice cu sau fără adenopatie.

Pe primul loc în *limfoamele nehodgkiniene benigne* se situează *limfomul difuz cu celulă mică* diferențiată. Acest tip de limfom este mai frecvent la vârstnici. Clinic, în stadiile de început apare o adenopatie localizată în principal în jumătatea superioară a corpului. Boala este un timp asimptomatică, din acest motiv bolnavii se prezintă în stadii avansate. Procesul se extinde treptat, în câteva luni se pot constata adenopatii considerabile. Pachetele ganglionare sunt acum aderente, de consistență tot mai fermă. Se dezvoltă hepato- şi splenomegalie şi apar şi fenomenele generale ca febra, transpirații, scădere ponderală.

Date de laborator

- În hemogramă, numărul de leucocite este normal.
- Formula leucocitară indică limfocitoză moderată (60%) cu 4.000 limfocite/mm^3.
- Sunt prezente paraproteinele (20% din cazuri).
- Hipogammaglobulinemia este frecventă.

Pe parcursul evoluției, limfomul se poate converti în leucemie limfatică cronică.

Tot în această categorie se include *limfomul folicular cu celulă mică clivată* (limfocit puțin diferențiat care constituie 50% din numărul total de limfoame nehodgkiniene. Bolnavii prezintă limfoadenopatie generalizată nedureroasă: cervicală, axială, inghinală, femurală. Există o perioadă lungă asimptomatică a bolii, deşi ganglionii sunt măriți. De multe ori, bolnavii se prezintă în stadiul diseminat al bolii cu afectarea splinei, ficatului şi măduvei osoase (stadiul III, IV). Evoluția bolii este variabilă. La unii pacienți adenopatiile cresc şi se reduc spontan, pe o

perioadă de 5 ani. La alții, evoluția este rapidă şi diseminată cu mărimea ganglionilor sau a unui organ. În acest caz apare durerea. Perioada de supraviețuire este lungă, pentru stadiile III, IV poate atinge 7 - 9 ani.

În cadrul limfoamelor cu *evoluție clinică intermediară* intră limfomul nehodgkinian *folicular* cu *celulă mare* denumit şi nodul histocitar, cu o celulă mare asemănătoare monocitului.

Un număr mic de cazuri se pot vindeca. Cele mai multe limfoame foliculare nu se vindecă prin tratament şi se convertesc în limfom difuz cu celulă mare.

Forma difuză cu celulă mică clivată are aspectul ca în cazul limfomului folicular. Pacienții sunt de obicei vârstnici, majoritatea se prezintă în stadiul IV al bolii, cu o splenomegalie şi infiltrație a măduvei. Durata de viață este mai scurtă decât la cei cu formă foliculară, nodulară.

Forma difuză cu celulă mică clivată şi *celulă mare* este răspândită în special la femei în vârstă, localizat pe piele, tractul gastrointestinal şi ovar. După tratament, chimioterapic recăderile sunt frecvente.

În *forma difuză cu celulă mare*, în cursul evoluției bolii, pot fi afectați rinichii, ficatul, plămânii, nervii periferici şi pot apărea leziuni distructive osoase, apar limfocite mari, neoplazice, circulante şi **creşte marcat LDH-ul**.

În cadrul limfocitelor nehodgkiniene *cu evoluție severă*, *limfoamele cu celulă mare imunoblastice* au o evoluție fulminantă.

Boala se observă în jurul vârstei de 50 de ani, de obicei, bolnavii fiind deja în stadiu avansat.

Date de laborator

- Bolnavii prezintă anemie.
- Limfopenie.
- Hipergammaglobulinemie.

Limfomul difuz limfoblastic este mai frecvent la copii şi mai rar la adulți. Majoritatea se prezintă în stadiul III şi IV de boală. Pacienții cu infiltrat al măduvei osoase prezintă incidență mare a afectării sistemului nervos central. Boala are evoluție rapidă şi fatală.

Limfoamele non - Hodgkiniene cu celulă T reprezintă o proporție mică (20%). Pentru limfoamele T non - Hodgkiniene foarte agresive clasic este limfomul T limfoblastic. Boala este mai frecventă la vârste tinere 17 - 22 de ani, cu o incidență uşor crescută pentru sexul masculin. Bolnavii prezintă adenopatie periferică. Acest limfom poate avea o predilecție pentru afectarea la nivelul măduvei şi a sistemului nervos central. Durata supraviețuirii este în medie 5 ani.

Limfoamele non - Hodgkiniene T se caracterizează prin **valori crescute ale LDH-ului**.

În limfoamele nehodgkiniene extensia bolii se face pe cale hematogenă, în principal, spre deosebire de boala Hodgkin în care extensia se face în mod special pe cale limfatică.

Leucemiile

Prin leucemii sau leucoze se înțeleg proliferări neoplazice ale celulelor mieloide medulare sau a celulelor limfatice din organele sistemului limfatic. Celulele maligne circulă prin sânge şi infiltrează orice țesut din organism. Leucemiile sunt boli clonale şi se caracterizează prin proliferarea unui singur tip de celule neoplazice. Clona malignă va genera o populație de celule leucozice care prezintă modificări importante şi care sunt incapabile de a se matura (displazie). Aceste modificări calitative şi cantitative din organele hematopoetice se întâlnesc de obicei în sângele periferic care este invadat de celule neoplazice, mai ales în formele cronice.

Clasificare: - Leucemiile se pot clasifica în 4 forme comune: acută mieloidă, acută limfoblastică, granulocitară cronică şi limfatică cronică.

Clasificarea clinică corespunde cu gradul de maturitate al tipului de celule predominant. Astfel, leucemiile acute se caracterizează prin celule imature şi cu o evoluție mai rapida. Leucemiile cronice sunt caracterizate prin proliferarea excesivă a celulelor în toate stadiile de maturație.

Etiologia leucemiilor umane se află în stadiu ipotetic. Leucemiile par să fie produse de interrelația dintre mai mulți factori etiologici. Majoritatea datelor converg în sensul unei dereglări a materialului genetic conținut în ADN-ul nuclear, ca urmare a efectului oncogen exercitat de diverşi factori nocivi.

Dintre factorii presupuşi a fi implicați în procesul de leucemogeneză sunt acceptați cei infecțioşi virali, fizico-chimici şi genetici. Virusurile au fost dovedite ca având un rol etiologic în producerea leucozelor la şoareci şi păsări.

Dintre factorii fizici, radiațiile ionizante au efect leucemogen recunoscut. Există o relație directă între doza de iradiere şi riscul leucemiei.

Dintre agenții chimici, s-a demonstrat efectul cancerigen al compuşilor organici din gudron (benzpirenul), a benzenului care este mielotoxic şi leucemogen, a unor produse petroliere, pesticide, coloranți şi dintre medicamente Melphan, Clorobucil, ciclofosfamida, care au

produs leucemii la bolnavii care sufereau de boli maligne şi au fost trataţi cu aceste medicamente.

Aspecte comune tuturor leucemiilor. Toate tipurile de leucemii prezintă o serie de aspecte comune, cum sunt:

- infiltrarea şi înlocuirea măduvei osoase cu celule leucemice conduce la anemie, neutropenie şi trombocitopenie,
- celulele leucemice se pot infiltra şi în alte ţesuturi şi organe.
- Creşte metabolismul bazal, când turnover-ul masei celulare maligne este mare, ceea ce duce la pierderea în greutate.

Semnele clinice comune leucemiilor sunt datorate infiltraţiei măduvei osoase cu celulele leucemice care conduc la insuficienţă medulară exprimată prin:

- *sindrom anemic* (astenie, ameţeli, palpitaţii, dispnee de efort, paloare, tahicardie)
- *sindrom infecţios* datorat neutropeniei, care se agravează prin tratamentul citostatic (febră, infecţii generalizate sau localizate cu bacterii, fungi sau virusuri)
- *sindrom hemoragic* datorită trombocitopeniei (purpură, epistaxis, gingivoragii, hemoragii viscerale asociate)

Invazia organelor cu celule leucemice provoacă, de regulă, hipertrofierea lor tumorală, de exemplu adenopatie, splenomegalie, hepatomegalie.

Infiltraţia în cavităţile oaselor determină dureri şi osteoliză, rar dezvoltarea de tumori osoase.

Sistemul nervos central şi rinichii, afectate de procesul leucemic, sunt locurile cu precădere unde celulele leucemice se adună în cuiburi („sanctuare") care rămân neinfluenţate de tratament şi care constituie o sursă de recădere a bolii.

Semnele de suferinţă renală pot fi rezultatul infiltraţiei specifice al infecţiei urinare sau *al acumulării de acid uric.*

Date de laborator. Diagnosticul leucemiilor se stabileşte cu ajutorul explorărilor de laborator.

- La examenul sângelui periferic se constată grade diferite de anemie (Hb, Ht scăzute*), granulocitopenie* şi *trombocitopeni*e;
- Numărul mare de leucocite variază în limite foarte largi, în funcţie de numărul de celule leucemice care ajung în circulaţie (10 000-100 000/mm^3 mai rar până la 500 000/mm^3);
- Diagnosticul diferenţial se face clinic dar de obicei prin examenul de laborator, în funcţie de tipul leucocitelor şi morfologia acestora;

• Acidul uric creşte la un procent aproximativ de 50% din pacienţi, atingând valori de 10 mg%;

• Prin electroforeza proteinelor se constată o creştere a fracţiunii gamma. Modificările imunoserologice sunt de asemenea des întâlnite.

Leucemia acută

Leucemia acută este o afecţiune malignă a celulei precursoare hematopoetice. Celula malignă îşi pierde capacitatea de maturare şi diferenţiere şi proliferează necontrolat, înlocuind elementele medulare normale.

Leucemiile acute se clasifică în: leucemie acută limfoblastică (LAL) şi leucemie acută mieloblastică (LAM). Ambele pot apărea la orice vârstă, dar LAL este în primul rând o boală a copiilor şi reprezintă 90% din leucemiile acute la copii (incidenţa maximă la 3-7 ani). LAM este tipul de leucemie acută la adulţi.

Manifestări clinice. Cei mai mulţi pacienţi suferă de sângerări care apar la nivelul pielii şi a mucoaselor, manifestate prin gingivoragii, epistaxis sau metroragii (datorate trombocitopeniei). Infecţiile apar datorită neutropeniei (sub 500/μL). La pacienţii cu neutropenie severă poate să apară septicemia. Aceste deficienţe sunt datorate infectării măduvei osoase cu celule maligne care impiedică funcţia medulară normală. Pot să apară şi durerile osoase şi articulare. Forma de debut dramatică este cu hiperleucocitoză, cu număr foarte ridicat de blaşti circulanţi, peste 200 000/μL, care conduce la apariţia tulburărilor circulatorii manifestate prin cefalee, confuzie, dispnee.

Pacienţii cu leucemie monocitară pot prezenta stomatită şi hipertrofie a gingiilor.

Date de laborator

• leucocitoza
• anemie
• trombocitopenie
• neutropenie
• hiperuricemie
• pacienţii LAM prezintă enzime mieloide (peroxidaza, butirat-esteraza), puse în evidenţă prin colorаţii histochimice.

Leucemia limfocitară cronică

Leucemia limfocitară cronică (LLC) este o afecţiune malignă a limfocitelor B. Este o boală cu acumulare lent progresivă de limfocite mici, incompetente imunologic. LLC este cea mai frecventă formă de leucemie, ea poate apare la orice vârstă, dar în peste 90% din cazuri la peste 50 de ani. Este mai frecventă la bărbaţi decât la femei. La mulţi pacienţi limfocitoza este descoperită întâmplător. La examenul fizic 80% din pacienţi prezintă limfadenopatie şi 50% hepato- sau splenomegalie.

Date de laborator

- leucocitoză >20 000/μL,
- limfocite mici cu aspect matur,
- standardizarea pentru prognostic:
  - stadiul 0: limfocitoză
  - stadiul I: limfocitoză şi adenopatie
  - stadiul II: limfocitoză cu hepatomegalie sau splenomegalie
  - stadiul III: limfocitoză şi anemie (adenopatii, splenomegalie, hepatomegalie)
  - stadiul IV: limfocitoză şi trombocitopenie (anemie, adenopatii, splenomegalie, hepatomegalie) cu nivel de risc mare.

Leucopenia

Reprezintă scăderea numărului de leucocite sub valorile normale.

Neutropenia se întalneşte în *infecţii bacteriene* (bruceloza, febra tifoidă, tuberculoză), *infecţii virale, fungice* sau *parazitare.* Neutropenia mai poate fi cauzată şi de diverse afecţiuni, cum sunt: lupus eritematos sistemic, leucemie acută, limfom, mielom, carcinom, anemie megaloblastică. Neutropenii medicamentoase se întâlnesc după administrarea de antiinflamatoare (indometacin, fenilbutazona, oxifenbutazona), antibiotice şi chimioterapice (cloramfenicol, sulfamide), anticonvulsivante, antidepresive, antihistaminice, agranulocitoza indusă de amidopirina.

Agranulocitoza, boala acută caracterizată prin scăderea accentuată (adesea până la dispariţie) a granulocitelor neutrofile în sângele periferic. Aceasta determină apariţia unui sindrom infecţios grav, manifestat prin febră şi cu leziuni bucale ulceronecrotice.

Etiologie. S-au descris două forme patologice: ereditară şi dobândită. Forma ereditară se observă în primele săptămâni după naştere şi se transmite autosomal recesiv. Forma dobândită se datoreşte administrării unor medicamente.

Primul medicament incriminat în agranulocitoză a fost amidopirina, dar actualmente se cunosc şi altele cum sunt: Clordelazinul, Tiouracilul, Cloramfenicolul, Fenilbutazona, sărurile de aur, sulfonamidele.

Manifestările clinice sunt nespecifice, debutul este brusc, cu frisoane, febră, astenie, ulceraţii bucofaringiene.

Date de laborator. În sânge se observă leucopenie severă (sub 1 000/mm^3) cu agranulocitopenie (0-10%). Eritrocitele şi trombocitele sunt normale. VSH-ul este accelerat.

Limfocitopenia reprezintă scăderea numărului de limfocite sub valorile normale şi se întâlneşte în tratamentul cu corticosterozi, medicamente citotoxice, sindromul Cushing, uremie, boala Hodgkin.

Trombocitele

Trombocitele, sau plachetele sanguine, sunt cele mai mici elemente sanguine, anucleate, ce iau naştere în măduva osoasă. Sângele periferic conţine 150 000 – 300 000/mm^3. Au o viaţă medie de aproximativ 10 zile. Deşi dimensiunile lor sunt foarte mici, diametrul 2-5 μ, ele au o activitate metabolică însemnată ce constituie bazele moleculare ale importantelor funcţiuni pe care le îndeplinesc.

Funcţia fundamentală a trombocitului este participarea sa la hemostază, atât în faza celulară cât şi în cea plasmatică a coagulării prin eliberarea factorilor trombocitari ai coagulării.

Funcţiile secundare ale trombocitelor sunt reprezentate de: ***a.*** implicaţiile pe care trombocitele le au în procesele imune; ***b.*** fagocitoza complexelor imune şi a particulelor virale; ***c.*** funcţia de protecţie a peretelui vascular, trombocitele fiind încorporate în stratul endotelial ce căptuşeşte vasele, înfiltraţia având ca rezultat întărirea peretelui vascular.

Trombocitul posedă o membrană trilamelară de natură lipoproteică.

Din punct de vedere infrastructural, în citoplasma plachetară se găsesc: mitocondriile cu echipamentul enzimatic corespunzător fosforilării oxidative, lizozomii cu hidrolaze acide şi anumite granule. Dintre acestea menţionăm granulele ce conţin fosfolipide, enzime hidrolitice şi fibrinogen; corpii denşi cu serotonină, catecolamine, ADP şi ATP.

O parte din constituenţii plachetari sunt de natură proteică. Dintre aceştia o proteină importantă este trombostenina, componentă contractilă asemănătoare actinei din muşchi, activată de ionii de Ca^{2+} şi Mg^{2+}. Ea reprezintă 15% din proteinele totale ale trombocitelor umane.

Hidraţii de carbon reprezintă 8% din greutatea trombocitului.

Lipidele sunt reprezentate în principal de fosfolipide.

Echipamentul enzimatic al trombocitului este complex, fiind prezente enzimele active în glicoliza anaerobă şi şuntul pentozic.

Conținutul în ATP este de 150 de ori mai mare decât al eritrocitului. În agregarea plachetară ATP şi ADP ar acționa ca inhibitori. De asemenea, funcțiile de captare şi transport asigurate de plachete sunt dependente de ADP.

Defectele agregării plachetare sunt prezente în anumite trombopatii ereditare sau dobândite (uremie, ciroză hepatică).

Variațiile cantitative se manifestă în ambele sensuri.

Trombopeniile (când numărul trombocitelor este sub 100000/mm^3) se datorează unei geneze deficitare, unei lize crescute (în splină) sau unei distrugeri exagerate prin factori infecțioşi, în şocul anafilactic, în stări de defibrinare intravasculară. Trombopenii se mai întâlnesc în diferite leziuni medulare, metastaze medulare, în anemia pernicioasă hemolitică. Persoanele cu trombocitopenie au tendință la sângerare, ca şi hemofilicii dar la nivelul capilarelor şi venulelor foarte mici şi nu a celor mari ca în cazul hemofiliei. Ca urmare vor apare hemoragii mici punctiforme, în toate țesuturile, aşa numita *purpură trombocitopenică* (când valoarea trombocitelor va scădea sub 50000/mm^3)

Trombocitoza este definită ca o creştere a numărului de trombocite peste 450 000/mm^3 şi poate fi: fiziologică (tranzitorie); reactivă secundară sau esențială (primară).

Trombocitoza fiziologică poate apare după stres sau efort fizic prin mobilizarea trombocitelor din splină şi plămân, sub influența epinefrinei.

Trombocitoza reactivă poate apare ca rezultat al producției medulare ca răspuns la hemoragie, hemoliză, boli inflamatorii sau neoplazice. După splenectomie trombocitoza poate atinge valori de peste 1 000 000/mm^3 şi poate persista câteva săptămâni.

Tromboza esențială (primară) este o boală mieloproliferativă care provine prin tranformarea neoplazică a unei celule stem pluripotente. Se caracterizează prin număr crescut de trombocite, splenomegalie, iar în circulație sunt prezente trombocite gigante.

Hemostaza şi fibrinoliza

Prin hemostază se înțelege ansamblul reacțiilor şi mecanismelor care concură la oprirea sângerărilor.

Procesul, deosebit de complex, se efectuează prin participarea vaselor sanguine, a trombocitelor, a factorilor plasmatici ai coagulării şi a

țesuturilor. Strâns legate de hemostază sunt mecanismele care asigură liza cheagului de fibrină format, de aceea şi explorarea funcțională a acestora se efectuează împreună cu a hemostazei.

Conversiunea fibrinogenului, în fibrina polimeră insolubilă, în condițiile oferite de mediile lichide ale organismului constituie esența procesului fiziologic al fibrinolizei, reprezintă substratul principal în menținerea fluidității sângelui.

Atât coagularea cât şi fibrinoliza sunt procese reglate enzimatic, reprezintă „cascade enzimatice", a căror tulburare şi dezechilibru favorizează fie formarea de trombuşi (cheaguri) - prin activarea coagulării sau scăderea coagulării şi creşterea fibrinolizei.

Coagularea

În procesul coagulării iau parte trei componente:

- vasculară (tisulară)
- plachetară (plachetele sanguine)
- plasmatică (factorii coagulării).

Aceste componente sunt strâns legate între ele şi alcătuiesc o unitate funcțională. Ele se completează reciproc.

1. Componenta vasculară

Când se produce o leziune are loc în primul rând o diminuare pasivă a calibrului vaselor la locul leziunii, prin care se reduce presiunea şi debitul sanguin. La aceasta se adaugă contracția activă a muşchilor netezi din peretele vascular sub efectul mediatorilor ca adrenalina, noradrenalina, serotonina (vasoconstricție) şi prostaglandinele (vasodilatație). O pierdere mai mare de sânge duce în plus la o redistribuție a volumului sanguin, ce este dirijat spre organele centrale. Astfel se reduce debitul circulator la nivelul extremităților.

2. Componenta plachetară

Imediat după lezare trombocitele participă la hemostază prin aderarea lor la peretele vascular lezat, după care (în urma eliberării de ADP) se produce agregarea lor, ceea ce declanşează o serie de modificări fizico-chimice trombocitare exprimate prin fenomenul metamorfozei vâscoase. În cursul metamorfozei vâscoase au loc în trombocite modificări biochimice intense, eliberându-se o serie de substanțe. O parte din ele (adrenalina, noradrenalina, serotonina) mențin vasoconstricția, altele activează sistemul coagulării.

3. Componenta plasmatică

Numită şi hemostaza secundară, este faza adevărată a coagulării care conduce la formarea cheagului rezistent prin acțiunea în serie a factorilor plasmatici ai coagulării.

Principalii factori ai coagulării sunt:

Factorul I sau fibrinogenul este o glicoproteină cu greutate moleculară 330 000-340 000 daltoni, are o formă moleculară alungită, cu mobilitate electroforetică beta-gama. Fibrinogenul este una din cele mai puțin solubile din sistemul proteic sanguin. Este alcătuit din 6 lanțuri peptidice, grupate câte două. Perechile diferă una de cealaltă prin aminoacidul N-terminal, şi anume: tirozina ca grupare terminală, a doua are acidul glutamic, iar a treia alanina.

Transformarea fibrinogenului în fibrină se poate realiza atât artificial cât şi fiziologic. În primul caz se poate obține prin factori chimici: ninhidrina, cloraminaT, aloxan şi prin factori biologici: enzime proteolitice, coagulaza din veninul de şarpe.

Fiziologic, transformarea fibrinogenului în fibrină se petrece în 2-3 secunde sub acțiunea trombinei. Transformarea fibrinogenului în fibrină este un fenomen de proteoliză limitată, în cursul căreia se produc două lanțuri polipeptidice diferite: fibrinopeptidele A şi B:

Fibrinogen + trombină → Fibrină + fibrinopepetide A şi B

Fibrina umană conține ca grupări N-terminale, tirozina şi glicocolul.

În lanțurile fibrinopeptidice arginina ocupă capătul N-terminal.Prin desprinderea fibrinopeptidelor se formează monomerul de fibrină. Odată cu fibrinopeptidele se pierde un număr mare de sarcini negative, condiție ce favorizează asocierea monomerilor sub formă de polimeri. Polimerizarea monomerilor de fibrină se face pe două direcții: lon-gitudinală cu formarea fibrelor primare de fibrină şi transversală, cu producerea fibrelor secundare de fibrină, datorită punților de H ce se stabilesc între tirozina şi histidina din două fibre primare. Această polimerizare în dublă direcție are ca efect o gelificare, cu trecerea monomerilor de fibrină din stare de sol în stare de gel. (Fibrina S-solubilă). Fibrinaza, activată prin trombină, intervine pentru formarea fibrinei insolubile (Fibrina I), care conferă cheagului rigiditate.

Factorul II sau **protrombina**, precursor al trombinei, are o greutate moleculară de 63 000 daltoni şi este caracterizată printr-un conținut ridicat în acizi glutamic şi aspartic, arginină, lizină şi triptofan.

Factorul III sau **tromboplastina tisulară** sinonim cu trombokinaza sau tromboplastina intrinsecă. Ea catalizează transformarea protrombinei în trombină şi este de natură lipopoteică.

Factorul IV este reprezentat de ionii de Ca^{2+} ce acționează în diferitele etape ale coagulării, catalizează mai multe trepte ale formării trombinei.

Factorul V, proaccelerina, sinonim cu accelerina, trombokinaza sau tromboplastina intrinsecă, este o β - globulină cu greutate moleculară 290 000 d. Proaccelerina este trecută în forma sa activă, prin factorul STUART (factor X) şi în prezența ionilor de Ca^{2+}.

Factorul VI a fost anulat.

Factorul VII sau **proconvertina** este o β-globulină cu greutate moleculară de 15 000 - 25 000 d. Este sintetizat în ficat cu participarea vitaminei K.

Factorul VIII, globulina antihemofilică A (AHG), sinonim cu factorul plachetar I, tromboplastinogenul A, este o globulină cu greutatea moleculară 190 000 daltoni.

Factorul IX, sinonim cu factorul antihemofilic A, cofactor plachetar II, tromboplastina B, este o globulină cu greutate moleculară 50 000 - 110 000 daltoni, sintetizată în ficat, cu participarea vitaminei K. Este activat în prezența ionilor de Ca^{2+}, heparina suprimând acest efect.

Factorul X Stuart-Prower este o α-1-globulină, cu greutate moleculară de 85 000-87 000 daltoni, este sintetizat în ficat în prezența vitaminei K.

Factorul XI este o β-globulină cu activitate esterazică.

Factorul XII factor de contact sau factor de suprafață (surface factor) este o $\alpha_2$globulină cu greutate moleculară de 82 000 daltoni.

Factorul XIII fibrinaza (FSF), factor de stabilizare a fibrinei are o greutate moleculară de 170 000 şi se asociază cu γ-globulină cu greutate moleculară 350 000 d.

Pe lângă aceşti factori ai coagulării plasmatici sau tisulari se cunosc încă 9 factori plachetari, desemnați prin cifre arabe.

Mecanismele coagulării. Mecanismul coagulării se desfăşoară pe două căi ce se deosebesc după originea tisulară sau sanguină a factorului de declanşare a procesului „în cascadă".

Calea exogenă este scurtă, durează câteva secunde. Factorul declanşator îl constituie sucul celular eliberat din celulele țesutului lezat. Această cale are două etape importante: generarea protrombinazei şi producerea trombinei. În acest mecanism intervin ionii de Ca^{2+}, factorul

III - tromboplastina tisulară sau trombokinaza, proconvertina (factorul VII) care nu intervine decât pe această cale extrinsecă. Trombina acționează asupra fibrinogenului transformându-l în fibrină.

Calea endogenă este de durată mai lungă, de ordinul minutelor. Pe această cale intervin 8 factori. Ea se desfăşoară în patru etape distincte:

1. Tromboplastinoformarea când sub influența factorilor plachetari şi a ionilor de calciu are loc formarea tromboplastinei active.

2. Trombinoformarea este rezultatul acțiunii tromboplastinei tisulare sau plastice asupra protrombinei din sânge în prezența ionilor de calciu. Trombina formată infuențează fazele precedente ale hemostazei prin acțiunea ei asupra trombocitelor (metamorfoza vâscoasă) şi asupra ionilor de calciu. Trombina formată influențează fazele precedente ale hemostazei prin acțiunea ei asupra trombocitelor (metamorfoza vâscoasă) şi asupra unor factori ai coagulării (VIII-V) accelerând mult viteza de reacție.

3. Fibrinoformarea este rezultatul scindării proteolitice a fibrinogenului sub acțiunea trombinei: inițial (după detaşarea fibrinopeptidelor A şi B) iau naştere monomeri de fibrină, polimerizați apoi în molecule de fibrină S (solubile), în care sub acțiunea factorului XIII şi în prezența ionilor de calciu, rezultă un cheag de fibrină solid.

4. Retracția cheagului, proces complex, specific, având la bază scurtarea filamentelor de fibrină datorită contracției trombosteninei trombocitare, constă în micşorarea dimensiunilor acestuia cu expulzia serului; efectuarea sa necesită trombocite normale, atât ca număr cât şi calitate *(Fig. 3)*.

Fibrinoliza

Liza chegului de fibrină şi recanalizarea vasului sanguin este asigurată de către sistemul fibrinolitic, al cărui element central este plasmina, o enzimă proteolitică aflată în plasmă sub formă inactivă de plasminogen, care formează complexe cu fibrinogenul şi cu fibrina, fiind înglobat în cheagul de sânge. Activatorii obişnuiți ai plasminogenului sunt substanțe eliberate din endoteliile lezate, urochinaza (formată în rinichi) etc., iar în cazuri patologice - toxine microbiene, produşi de degradare a unor celule tumorale, substanțe din lichidul amniotic etc.

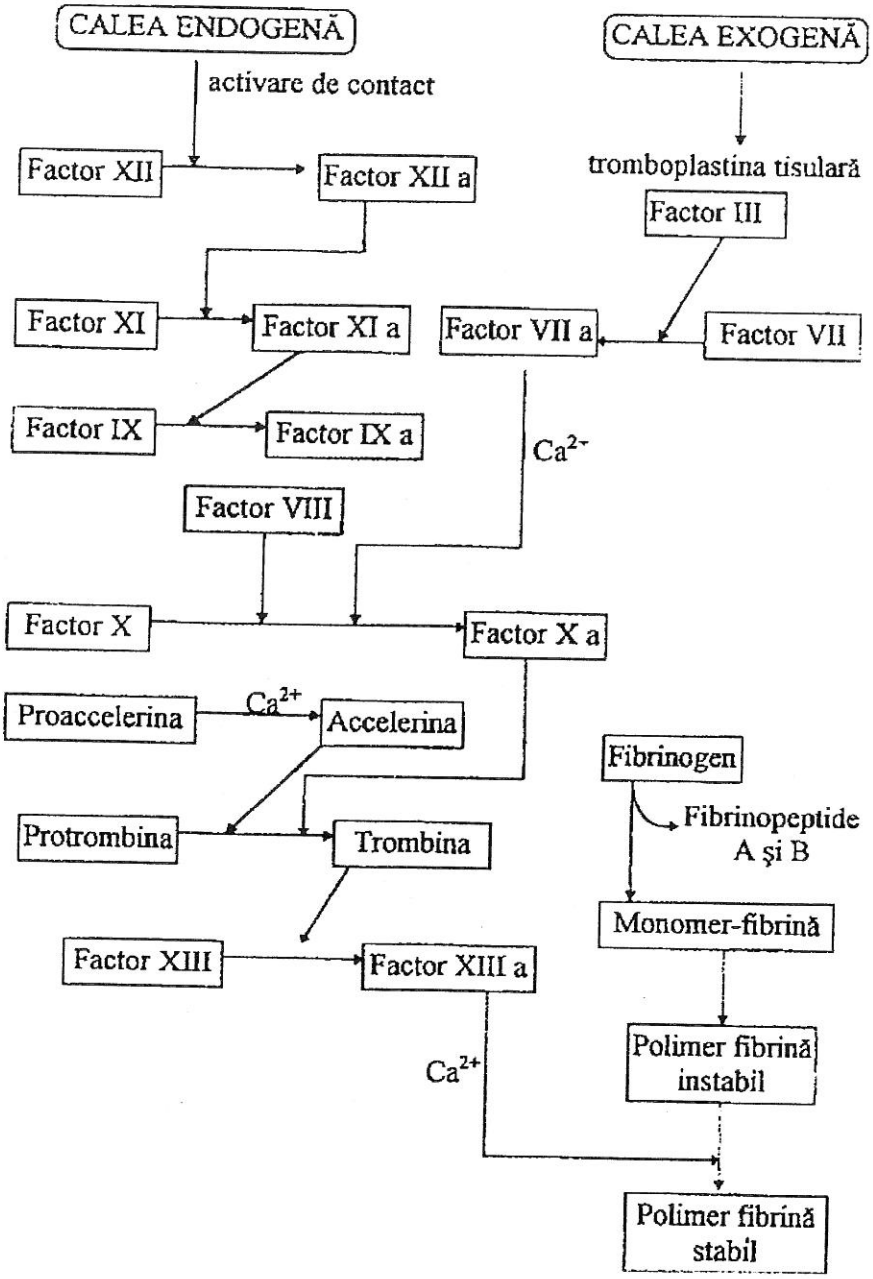


Fig. 3-Schema coagulării

Inhibitori ai coagulării

Sângele conține și factori inhibitori ai coagulării care reduc viteza acestui proces. Din grupul antitrombinelor fac parte fibrina însăși, antitrombina I, heparina sau antitrombina II și antitrombinele III, V, VIII insuficient studiate.

Fiziopatologia hemostazei

După cum s-a arătat, hemostaza spontană se realizează prin acțiunea unor factori care țin de integritatea anatomică și funcțională a vaselor, de numărul și calitatea plachetelor și de factorii plasmatici ai coagulării.

Pe de altă parte, în condiții fiziologice există un echilibru între procesele fibrinogeneratoare și cele fibrinolitice. Diverse procese patologice care creează un dezechilibru între aceste două procese, duc la:

- predispoziție la hemoragie;
- instalarea unei tromboze.

1. Sindroame hemoragice

Sindroamele hemoragice sunt manifestări clinice caracterizate prin apariția spontană sau ocazională de o plagă accidentală sau chirurgicală a unor hemoragii cutanate, mucoase sau viscerale, datorită tulburării funcției hemostatice a vaselor, a plachetelor sau a factorilor plasmatici ai coagulării.

a. *Sindroame hemoragice de natură vasculară.* Se datoresc alterărilor funcționale sau structurale ale vaselor din sectorul microcirculației. Ele se caracterizează prin existența unei hiperpermeabilități sau a unei fragilități vasculare (localizate sau generalizate) care se manifestă sub forma unor peteșii, echimoze sau hemoragii mucoase.

Sindroamele hemoragice de natură vasculară pot fi ereditare sau dobândite.

b. *Sindroame hemoragice de natură trombocitară.* Se caracterizează clinic prin apariția de hemoragii cutanate (peteșii și echimoze localizate mai ales la nivelul extremităților), mucoase (epistaxis, gingivoragii, menoragii) sau viscerale (hematurie, melenă, hemoragii cerebro-meningiene etc.).

Testele de explorare a hemostazei evidențiază prelungirea timpului de sângerare, iretractibilitatea sau retracția prelungită a cheagului, creșterea fragilității capilarelor și modificări numerice (creșteri sau scăderi) sau funcționale ale plachetelor.

Sindroamele hemoragice de natură trombocitară sunt cantitative (trombocitopenii) sau calitative (trombopatii) ambele putând fi congenitale sau dobândite.

c. Sindroame hemoragice de natură plasmatică. Coagulopatii.

Mecanismele care determină o hipocoagulabilitate sanguină, aflându-se la baza coagulopatiilor, sunt următoarele:

- sinteza insuficientă sau defectuoasă a unor factori ai coagulării (ex: tulburarea tromboplastinogenezei ca în cazul hemofiliilor; tulburarea trombinogenezei, tulburarea fibrinoformării etc.);
- prezența unor inhibitori patologici ai factorilor sau produselor coagulării (anticoagulante circulante);
- distrugerea excesivă a factorilor coagulării;
- consumul exagerat al unor factori care intervin în coagulare.

Hemofiliile

Sunt afecțiuni hemoragice ereditare cu transmitere recesivă legată de cromozomul X. Tulburarea de bază este scăderea factorilor coagulării VIII şi IX. Hemofiliile se manifestă aproape exclusiv la sexul masculin.

Hemofilia A este un sindrom hemoragipar datorat deficienței factorului VIII şi reprezintă 80% din totalul bolilor ereditare.

Hemofilia B se datorează lipsei factorului IX şi este de 8 ori mai rară decât *hemofilia A.*

Manifestările clinice depind de gradul deficitului în factor VIII şi respectiv IX. Aspectul clinic caracteristic în hemofilia severă este apariția hematoamelor aparent spontane la nivelul articulațiilor şi a muşchilor. *Hemartrozele* afectează cu predilecție articulațiile genunchilor, gleznelor, coatelor şi umărului. Resorbția sângelui este lentă (1-2 săptămâni).

Date de laborator

Timpul de coagulare (T.C.), timpul Howeel (T.H.) sunt prelungite peste 5-11 minute. Nu sunt modificate: timpul de sângerare (T.S.), timpul de protrombină (T.Q.), fibrinogenul, numărul şi calitatea trombocitelor.

2. Trombozele

Tromboza reprezintă manifestarea anarhică a mecanismelor care intervin în hemostaza fiziologică, fiind rezultatul unui dezechilibru coagulolitic, în sensul predominenței mecanismelor fibringeneratoare sau/şi a insuficienței mecanismelor fibrinolitice, care determină obliterarea printr-un cheag a unei zone vasculare, a cărei întindere rămâne în general limitată. Acest dezechilibru este indus de o lezare endotelială vasculară, de o stază intensă localizată sau de asocierea acestor doi factori.

În multe cazuri, tromboza este legată de factorii locali care produc staza fluxului sanguin sau lezarea unui vas. Cazurile cele mai cunoscute sunt tromboza venoasă profundă a membrelor inferioare după imobilizarea de durată în poziţie şezând şi tromboza venelor femurale şi iliace după intervenţii chirurgicale la nivelul soldului.

Incidenţa crescută a trombozelor se asociază şi cu cancerul, afecţiuni mieloproliferative cum sunt policitemia vera şi trombocitoza esenţială.

Aceste alterări ale coagulării se pot pune în evidenţă prin examene specifice de laborator şi indică o stare de hipercoagulabilitate.

Examene hematologice

Pentru examenele hematologice se recoltează fie sânge venos, fie capilar.

A. Sânge venos. În cazul în care determinarea se face la o oarecare distanţă, se recomandă ca sângele să se recolteze pe un anticoagulant uscat.

În mod curent se utilizează următoarele substanţe:

a. Amestec anticoagulant Wintrobe:

- oxalat de amoniu 1,2 g
- oxalat de potasiu 0,8 g
- apă distilată ad 100 mL.

Se repartizează câte 0,5 mL din acest amestec într-o serie de eprubete sau sticle de penicilină şi se lasă câteva zile, fără dop, la termostat la 27°C, timp în care apa se evaporă complet.

Reziduul uscat este suficient pentru a recolta 5 mL de sânge; după recoltare se agită uşor flaconul fără să se facă spumă.

b. Sarea de sodiu a EDTA (Na_2-EDTA)

Se face o soluţie 1% Na_2-EDTA în ser fiziologic. Se repartizează în eprubete sau sticle de penicilină câte 0,2 mL şi se lasă să se usuce. Pe acest anticoagulant uscat se recoltează 2 mL sânge.

c. Heparină: soluţie 5 000 U (1 mL şi 49 mL apă distilată).

Substanţa cea mai indicată pentru examenele hematologice este Na_2-EDTA.

Din sângele recoltat pe Na_2-EDTA se pot efectua următoarele determinări: hemoglobina, hematocritul, numărători de eritrocite, leucocite, trombocite şi reticulocite, formula leucocitară.

B. Sânge capilar. Se recoltează din pulpa degetului, lobul urechii, prin înţepare, cu un ac steril, după dezinfectarea pielii. Pielea trebuie uscată, pentru a evita hemoliza, iar recoltarea trebuie făcută din a doua picătură de sânge, după ce prima a fost îndepărtată cu tifon sau vată. Înţepătura va fi suficient de profundă ca picăturile de sânge să se formeze spontan.

Numărătoarea de eritrocite, leucocite şi trombocite în camera Bürker-Türk

Principiul constă în numărătoarea elementelor figurate din sângele diluat (în pipete speciale Potain), într-un volum cunoscut de lichid.

Lichide de diluţie:

a. *pentru eritrocite:*	NaCl	0,85 g
	apă dist.	100 mL
	eozină (sol. 1 g/100 mL)	1-2 pic.
b. *pentru leucocite:*	apă dist.	100 mL
	acid acetic glacial	1 mL
	albastru de metilen (sol. 1 g/100 mL)	1-2 pic.
c. *pentru trombocite:*	oxalat de amoniu	1 g
	Na_2-EDTA	0,010 g
	apă dist.	100 mL

Numărătorile se pot face dintr-o probă de sânge capilar proaspăt sau dintr-o probă de sânge venos recoltat pe Na_2-EDTA.

Diluarea sângelui: în pipeta Potain montată pe un tub de cauciuc, se aspiră sânge până la marca 0,5; apoi lichid de diluţie până la marca 101, în pipeta cu bilă roşie (pentru numărătoarea de eritrocite) şi până la marca 11 în pipeta Potain cu bilă albă (pentru numărătoarea de leucocite şi trombocite). În acest mod s-au efectuat diluţii de 1:200 pentru eritrocite şi 1:20 pentru leucocite şi trombocite.

Se agită apoi pipeta Potain (aproximativ 1 min). Se aruncă primele 2-3 picături. În camera de numărat *(Fig. 4)* cu lamela perfect aplicată, se pune o picătură de amestec. Se aşteaptă depunerea elementelor figurate 1-2 min pentru eritrocite şi leucocite şi 15 min pentru trombocite.

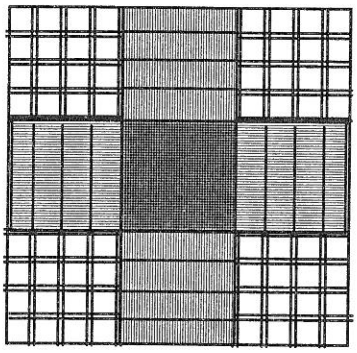


Fig. 4 - Reţeaua camerei Bűrker- Tűrk

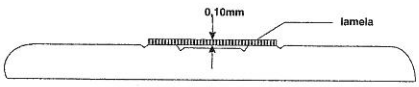


Fig. 5 – profilul unei camere de numărare

După numărătoarea elementelor, pentru a afla numărul de globule pe mm^3 de sânge, se face corecția de suprafață, înălțime şi diluție:

nr. de eritrocite/mm^3 = nr. eritrocite numărate x 5 x 10 x 200
= nr. eritrocite numărate x 10 000
nr. leucocite/mm^3 = nr. leucocite numărate x 1/2 x 10 x 20
= nr. leucocite numărate x 100
nr. trombocite/mm^3 = nr. trombocite numărate x 5 x 10 x 20
= nr. trombocite numărate x 1000

Valoarea normală a eritrocitelor (RBC, Red Blood Cells)
bărbat: 4,5 - 5,5 x $10^6/mm^3$ sau $10^{12}/L$
femei: 4,0 - 5,0 x $10^6/mm^3$ sau $10^{12}/L$
nou-născut: 5,0 - 6,0 x $10^6/mm^3$.

Creşteri: policitemii (poliglobulii, eritrocitoze) primare (policitemia vera) şi secundare (boli renale, pulmonare, cardiovasculare).

Scăderi: anemii.

Indicii eritrocitari

Pentru punerea în evidență a diverselor tipuri de anomalii hematologice este necesară determinarea indicilor eritrocitari. Determinarea lor se efectuează prin metode automate cu ajutorul analizoarelor.

Indicii eritrocitari definesc mărimea şi conținutul de Hb a eritrocitelor şi constă în măsurarea volumului mediu eritrocitar (MCV), a concentrației medii a hemoglobinei dintr-un volum mediu eritrocitar (MCHC) şi concentrația medie de Hb pe eritrocit (MCH).

Indicii eritrocitari sunt utilizați pentru diferențierea tipurilor de anemii deoarece în diferite stări de deficiență acestea pot fi clasificate şi după mărimea eritrocitelor.

Volumul mediu eritrocitar (MCV; Mean Corpuscular Volume).

Acest indice exprimă volumul ocupat de un singur eritrocit şi este exprimat în femtolitri (fL) sau μm^3.

$$MCV\ (fL) = \frac{Hct\ \%) \times 10}{RBC\ (10^{12}/L}$$

MCV indică dacă mărimea eritrocitelor este nomală (normocite), mai mici decât normal (microcitare, < 80 fL) sau mai mari decât normal (macrocitare, > 100 fL). MCV poate fi fals crescut dacă celulele aderă una de alta sau când numărul de reticulocite este mai mare deoarece

acestea conțin mai multă apă decât eritrocitele mature şi ele vor avea un volum mai mare.

Concentrația medie de hemoglobină dintr-un volum eritrocitar (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration; MCHC).

MCHC măsoară concentrația de hemoglobină în eritrocite şi este important pentru monitorizarea terapiei în anemie deoarece pentru calcularea acestui indice sunt utilizați doi parametri hematologici importanți (hemoglobina şi hematocritul).

$$\text{MCHC (g/dL)} = \frac{\text{Hb (g/dL)} \times 100}{\text{Hct (\%)}}$$

Valori normale: 32-36 g/dL.

MCHC este < 30 g/dL în anemii hipocrome, anemii microcitare, deficiențe de fier, şi creşte cu valori mai mari de 37 g/dL în sferocitoză ereditară.

MCHC poate prezenta valori fals pozitive în hiperlipemie.

Concentrația medie de hemoglobină (Mean Corpuscular Hemoglobin; MCH).

MCH măsoară media cantității de hemoglobină pe eritrocit şi este importantă pentru diagnosticarea anemiilor severe.

Valorile normale: 27-32,2 pg/celulă.

Media greutății Hb în eritrocit (RBC) se exprimă în picograme, după formula:

$$\text{MCH (pg/cel)} = \frac{\text{Hb (g/dL)} \times 10}{\text{RBC } (10^{12}/\text{L})}$$

Creşterea MCH este asociată cu anemia macrocitară şi scăderea în anemia microcitară.

Indicele de distribuție celulară (Red Cell Size Distribution Width; RDW).

Această metodă automată de determinare este esențială pentru indicarea gradului de anizocitoză (variația anormală a dimensiunilor eritrocitelor). În mod normal eritrocitele prezină un grad scăzut de variație.

Valori normale: 11,5-14,5 coeficientul de variație (cv) a dimensiunii celulelor.

$$\text{RDW (cv\%)} = \frac{\text{Deviația standard a RBC} \times 100}{\text{MCV}}$$

Calcularea RDW este util pentru a distinge talasemiile necomplicate (valori normale ale RDW şi scăzute ale MCV), anemiile feriprive (cu RDW crescut şi MCV scăzut), anemiile din bolile cronice (cu RDW normal şi MCV scăzut sau normal).

RDW creşte în: deficienţe de fier, deficienţe de vitamina B_{12}, folat, β-talasemie) anemii hemolitice. Nu se cunosc cauzele scăderii RDW.

Hematocritul (Hct sau Ht)

Metoda Wintrobe

Principiu: În sângele recoltat pe anticoagulant uscat (Na_2-EDTA) se separă prin centrifugare la 2 200 turaţii/min, timp de 30 min, masa eritrocitară de plasmă şi se exprimă procentual volumul masei eritrocitare.

În tuburile Wintrobe originale, hematocritul se obţine direct citind înălţimea coloanei de eritrocite.

Valori normale: - bărbaţi: 42 – 48%
- femei: 40 – 43%

Utilitate diagnostică:

- Determinarea hematocritului (Ht) dă indicaţii asupra masei eritrocitare procentuale (nu asupra celei totale).

- Determinarea Ht este cea mai exactă metodă pentru aprecierea stării de anemie şi policitemie.

- Modificări paradoxale ale Ht se observă în caz de:

a. hemodiluţie cu scăderea Ht fără modificarea volemiei;

b. hemoconcentraţie cu creşterea Ht, fără ca volemia să fie modificată sau chiar cu scăderea acesteia (şoc hemoragic).

Creşterea Ht peste 60% devine periculos prin riscul de accidente vasculare (cerebrale, miocardice), datorită vâscozităţii crescute a sângelui.

Concomitent cu determinarea Ht poate fi apreciată masa leucocitară şi aspectul icteric sau lipemic al plasmei. Deasupra coloanei de globule roşii se formează un mic disc alburiu de globule albe.

Determinarea fotometrică a hemoglobinei sub formă de cianhemoglobina (HbCN)

Pe plan mondial a fost aleasă ca metodă standard de hemoglobinometrie determinarea fotometrică ca cianhemoglobină. Pentru calibrarea fotometrelor se folosesc soluţii standard de cianhemoglobină, preparate din hemoglobină umană.

Principiul metodei: Fericianura de K oxidează fierul feros din Hb în fier feric; acesta face ca toate felurile de Hb din sânge (exceptând

verdo-Hb) să treacă în methemoglobină sau hemiglobină care, pe măsură ce se formează, se combină cu KCN trecând în cianhemoglobină sau cianhemiglobină, derivatul hemoglobinic cel mai stabil.

Valori normale:

	valori limită g/100 mL	*Valori medii g/100 mL*
bărbat	13 – 17	15
femeie	11 – 15	13

Viteza de sedimentare a eritrocitelor (VSE) (metoda Westergreen)

Principiu: dacă sângele este tratat cu un anticoagulant şi lăsat în repaus, eritrocitele sedimentează după un timp variabil.

Se introduc 1,6 mL sânge venos într-o eprubetă care conţine 0,4 mL citrat trisodic 3,8%. Se amestecă şi se aspiră în pipeta Westergreen până la diviziunea 0. Pipeta se aşează în poziţie perfect verticală. Se notează ora. Citirea se efectuează după 1 şi 2 ore. Rezultatele se dau în milimetri.

Este posibilă şi o sedimentare accelerată de 10 şi 20 minute dacă se utilizează un suport (MPW 0,2) de sedimentare care permite înclinarea pipetelor la un unghi de 45°.

Valori normale:

	1 oră	*2 ore*
bărbat	1 - 10 mm	7 - 15 mm
femeie	2 - 12 mm	12 - 20 mm

VSE creşte în: boli infecţioase acute sau cronice, boli inflamatorii: tuberculoza activă, reumatism poliarticular acut, septicemii, leucoze, mielom, boala Hodgkin, nefroze, boli de colagen etc.

Măsurarea şi urmărirea vitezei de sedimentare permit, de asemenea, urmărirea evoluţiei unei infecţii (în tuberculoză).

Valori scăzute: hepatită epidemică, stări alergice.

Variaţii fiziologice: la femei, în timpul menstruaţiei viteza creşte; valori crescute se întâlnesc şi în sarcină, mai ales în ultimele luni. La copii viteza de sedimentare este ceva mai mare decât la adult.

Numărătarea Reticulocitelor

Reticulocitele sunt eritrocite tinere, imature anucleate dar care conţin resturi de citoplasmă şi un conţinut mare în ARN. Ele rămân în

măduvă aproximativ 2 zile, maturația intrasplenică durează 24 de ore, apoi circulă în sângele periferic încă 24 de ore, în concentrație mică de 1%.

Pe măsura maturării celulei, cromatina se condensează şi nu se segmentează. În citoplasmă nu se găsesc organite dar se găseşte Hb, astfel ea devine tot mai roz până când celula este complet matură şi are aceeaşi culoare ca eritrocitul. În ultima etapă de eliminare a nucleului rămâne numai o mică cantitate de ARN şi alte substanțe reziduale. Acestea au proprietatea de a se colora în albastru cu coloranți specifici pentru reticulocite.

Pentru determinarea numărului de Reticulocite, se recoltează sânge pe anticoagulant (EDTA-Na) se agită, se aduce în pipete speciale, se adaugă colorant (albastru de brilliant), se amestecă şi se citeşte la microscop.

$$\text{Reticulocite \%} = \frac{\text{reticulocite totale}}{\text{1 000 RBC} \times 100}$$

Valori normale: 0,5-1,5% din totalul de eritrocite.

Determinarea reticulocitelor se efectuează pentru diferențierea anemiilor datorate afecțiunilor măduvei, a hemolizei sau a hemoragiilor.

Reticulocitele cresc în: anemii hemolitice, anemii feriprive netratate, anemii din bolile cronice, bolile endocrine, alcoolism, radioterapie, tumori medulare.

Explorarea hemostazei şi fibrinolizei

Punerea în evidență a abaterilor patologice ale hemostazei trebuie să cuprindă investigarea celor trei mecanisme: vascular, trombocitar, plasmatic şi a sistemului fibrinolitic.

Explorarea unui bolnav care prezintă un sindrom hemoragic, sau se găseşte în stadiu preoperator, impune folosirea unui număr suficient de teste, bine alese, care pot localiza sindromul respectiv într-o anumită fază a echilibrului biologic al acestuia.

Astfel trebuie efectuate următoarele teste:

- Numărătoarea trombocitelor şi cercetarea lor pe frotiu este de mare importanță deoarece evidențiază deseori o hipocoa-gulabilitate (trombopenie, trombopatie) sau o hipercoagulabilitate (trombocitoză);
- Timpul de sângerare (TS);
- Timpul Quick (TQ);

- Timpul Howell (TH);
- Timpul de consum al protrombinei (TCP);
- Testul fragilității capilare;
- Dozarea fibrinogenului.

Recoltarea sângelui pentru efectuarea acestor teste se face dimineața, pe nemâncate, sau cel mult după un mic dejun care să nu fi cuprins nici un fel de grăsime (lapte, unt, ouă, ciocolată). De asemenea, cina din seara precedentă trebuie să fie lipsită de grăsimi. Acestea produc modificări în special la determinările asupra sistemului fibrinolitic şi asupra funcțiilor plachetare.

De asemenea recoltarea pentru coagulogramă nu trebuie să fie precedată de o altă recoltare de sânge, deoarece poate apărea la pacientul respectiv o hipercoagulare reactivă.

Pentru obținerea unor rezultate corecte, trebuie, de asemenea, să se respecte o serie de reguli:

- cercetarea minuțioasă a sedimentului de eritrocite care ar putea conține mici cheaguri; în acest caz nu se lucrează;
- examenele trebuiesc făcute în primele 2-3 ore de la recoltare;
- întotdeauna probele de sânge ale bolnavului vor fi lucrate în paralel cu probele de sânge de la martor normal, cu scopul de a verifica exactitatea reactivilor şi corectitudinea executării tehnicii.

Timpul de sângerare (TS)

Măsoară durata unei sângerări provocate prin incizia orizontală a unei zone mediane a lobului urechii.

Tehnica. Se dezinfectează pielea cu eter. Se sprijină lobul urechii pe un dop de penicilină şi se incizează cu un ac de seringă steril, declanşându-se concomitent cronometrul.

Din 30 sec în 30 sec se culeg picăturile de sânge pe o hârtie de filtru prin absorbție.

Sfârşitul sângerării este marcat de momentul în care plaga nu mai colorează hârtia de filtru. În acest moment se opreşte cronometrul notându-se timpul scurs.

Valorile normale: sunt cuprinse între 2-4 min. Se consideră timpul crescut numai dacă depăşeşte 5 minute. Valorile T.S. depind atât de numărul de trombocite cât şi de funcționalitatea lor. Până la o valoare de 100 000/mm^3 timpul de sângerare este normal. Când numărul trombocitelor scade la 10 000/mm^3, T.S. ajunge la 30 de minute, iar sub aceasta valoare se poate prelungi la 1 oră.

Când există alterări funcționale ale plachetelor sanguine T.S. nu se mai corelează cu numărul de trombocite. Astfel, în uremie, după ingestia de aspirină T.S. este alungit deşi numărul trombocitelor este normal.

TS nu se efectuează persoanelor care au luat aspirină, derivați salicilați sau au făcut transfuzii cu plasmă bogată în trombocite.

TS este alungit în: afecțiuni trombocitare (trombocitopenii sau trombocitopatii).

Timpul de coagulare (TC) - Metoda Bazarov

Se foloseşte numai în cazurile în care recoltarea venoasă este imposibilă (nou-născut, copil).

Este un test de coagulabilitate globală, în care se foloseşte sânge capilar.

Tehnica. Pe o lamă de sticlă se pune o picătură de ser fiziologic; se înțeapă pulpa degetului, se îndepărtează prima picătură; picătura a doua se lasă să cadă liberă peste picătura de ser fiziologic. Se declanşează cronometrul şi se pune lama într-o cameră umedă (cutie Petri prevăzută cu hârtie de filtru umezită). Se urmăreşte coagularea prin înclinarea uşoară a lamei din minut în minut.

Valorile normale: 8 - 10 minute.

Timpul de coagulare (TC) - (Metoda Lee - White)

Tehnica. Se măsoară din minut în minut timpul de coagulare al sângelui, recoltat fără coagulant, în eprubete cu diametrul de 16 mm.

Coagularea depinde de toți factorii coagulării.

Valori normale: 6 - 12 minute.

Valori prelungite apar de regulă în hemofilii; în afibrinogenemie sângele rămâne necoagulat.

Timpul Howell (TH)

Este timpul de coagulare al plasmei oxalatate sau citrate după recalcifiere. Este un test de coagulabilitate globală care implică toți factorii, estimând astfel şi funcția trombocitară şi activitatea factorilor plasmatici.

Tehnica. Se lucrează în eprubete de hemoliză, în baie de apă la +37°C, 0,2 mL plasmă oxalatată (obținută prin centrifugarea probei de sânge la 1000 t/min); se țin 5 min în baie, apoi se adaugă 0,2 mL $CaCl_2$ sol. 0,025 mol, declanşându-se simultan cronometrul.

Se lasă eprubeta 40 sec. în baie, apoi din 10 în 10 sec. se urmăreşte apariția coagulării, prin înclinarea eprubetei.

Valori normale: 60 sec. - 120 sec.

Ca şi în cazul TC, alungirea timpului Howell decelează o hipocoagulabilitate.

Timpul Howell permite diferențierea tipurilor de hemofilie şi decelarea prezenței de anticoagulanți circulanți.

Timpul de protrombină (Quick)

Este o metodă de explorare a factorilor coagulării din sistemul extrinsec (VII, X, V, II, I) în prezență de tromboplastină tisulară în exces.

Testul trebuie lucrat în maximum 2 ore de la recoltarea probei.

Tehnica. Într-o eprubetă de hemoliză ce se află în baia de apă la 37°C se aduc: 0,1 mL plasmă de analizat, 0,1 mL tromboplastină, 0,1 mL sol. $CaCl_2$ 0,025 mol/L. Se declanşează cronometrul şi se urmăreşte coagularea. Se opreşte cronometrul la apariția fibrelor de fibrină care se prind imediat într-un cheag complet.

Valori normale: 13 - 15 sec.

Rezultatele pot fi exprimate şi în activitate protrombinică procentuală, prin raportare la o plasmă martor a cărei activitate a fost găsită 100%.

TQ este alungit în: hipo- şi afibrinogenemii, anticoagulanți circulanți, hipoprotrombinemie, prezența de antitrombine, deficit de vitamina K, hepatita alcoolică.

Factorii care pot interfera rezultatele sunt: excesul de alcool, stările de diaree şi vomă şi administrarea unor medicamente, cum sunt: antibiotice, aspirina, cimetidina, fenotiazidele, cefalosporinele, fenil-butazona, metronidazolul, hipoglicemiante orale şi fenitoinul.

Toleranța la heparină în vitro (Soulier)

Principiul metodei constă în măsurarea timpului de recalcifiere a plasmei oxalatate în prezența unor cantități crescânde de heparină (0,3; 0,7 şi 1 u) în comparație cu plasma normală (fără heparină).

Valori normale:	Proba martor (fără heparină)	2'30"
	Proba cu 0,3 U heparină	4' - 5'
	Proba cu 0,7 U heparină	6' - 8'
	Proba cu 1,0 U heparină	10' - 20'

Indicele de coagulabilitate (IC)

Dacă de adaugă aceeaşi cantitate de heparină (1,0 U) la o plasmă normală şi la cea de cercetat se poate calcula indicele de coagulabilitate după formula:

IC = timp martor/timp bolnav

Valori sub 0,8 = hipocoagulabilitate

Valori peste 1,2 = hipercoagulabilitate

Determinarea toleranței la heparină, a indicelui de coagulabilitate şi a timpului de protrombină (Quick) sunt metodele cele mai exacte de determinare a hipocoagulabilității induse terapeutic.

Dozarea fibrinogenului

Fibrinogenul plasmatic este transformat în fibrină prin adaos de trombină. Cheagul de fibrină este spălat, uscat şi cântărit.

Valori normale: 2,5 - 4 g‰ fibrinogen.

Hiperfibrinogenemii: valori peste 5 g se întâlnesc în stări reumatice, colagenoze, infecţii pulmonare acute, cancere pulmonare, după intervenţii chirurgicale.

Hipofibrinogenemii: se întâlnesc în afecţiuni hepatice grave şi afibrinogenemie congenitală, întâlnită foarte rar.

Timpul de trombină (TT)

Fibrinoformarea poate fi explorată prin adăugarea de trombină peste o probă de plasmă, primele două faze ale coagulării fiind suprimate. Determinarea timpului de coagulare a plasmei bolnavului se face comparativ cu o plasmă normală.

Diferenţe mai mari de 5 secunde între martor şi plasma de cercetat se întâlnesc în afibrinogemii sau în prezenţă de anticoagulanţi.

TT este alungit în: hipofibrinogenemii, terapia cu heparină, mielom multiplu, uremie.

TT este scăzut în hiperfibrinogenemie.

Volumul mediu trombocitar (Mean Platelet Volume, MPV)

Acest indice determină mărimea uniformă a trombocitelor. Determinarea se efectuează pentru diagnosticul diferenţial al trombocitopeniilor.

Valoare normală: 7,4-10,4 fL sau μm^3.

Creşterea MPV se întâlneşte în: purpură trombocitopenică idiopatică, după hemoragii masive, vasculite, anemie megaloblastică.

I.4. COMPOZIŢIA CHIMICĂ A SÂNGELUI

Există două posibilităţi de a face clasificarea componentelor din sânge:

I. După proveniența componentelor.

II. După structura chimică a componentelor.

I. După proveniența componentelor acestea se împart în 3 grupe, dar între aceste grupe nu există o delimitare perfectă.

***1.* Substanţe nutriţionale.** În această categorie se disting 2 clase, şi anume:

a. substanţe care au o proveniență exogenă (alimentară) ele absorbindu-se prin tractul gastro-intestinal în urma digestiei: glucoza, aminoacizii, lipidele, sărurile minerale, vitaminele;

b. substanțe care apar ca produşi intermediari ai metabolismului: acid piruvic, acid lactic, acid citric, corpii cetonici; sau sunt elaborate de diferite organe şi apar în sânge pentru a fi transportate la locul lor de acțiune, ex. hormonii.

În această categorie intră şi oxigenul.

***2.* Substanțe de excreție.** În această categorie întră substanțele care rezultă în urma metabolismului şi care se elimină din organism prin diverse organe: rinichi, plămâni, piele (transpirație şi perspirație), intestin. Din această categorie amintim: ureea, acidul uric, creatinina, NH_3, CO_2, urobilinogenul, porfirinele, indicanul.

***3.* Substanțe funcționale** - care au rolul de a menține integritatea şi funcționalitatea sângelui.

Din această categorie, în plasmă amintim: fracțiunile proteice (albumine, globuline, fibrinogen), anionii: Cl^-, HCO_3, fosfați; cationii Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, factorii de coagulare şi anticoagulare. În eritrocit: enzimele celulare, hemoglobina, glutationul, ATP-ul, K^+, Mg^{2+}, fosfat anorganic.

Apa aparține în egală măsură celor trei grupe, la fel şi colesterolul, trigliceridele.

II. După structura chimică

În constituția sângelui apa se găseşte în proporție de 90%, iar restul de 10 % este reprezentat de substanțele solide. Dintre acestea:

1. Substanțe anorganice 1% şi anume:

a. cationi: Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}

b. anioni: Cl^-, HCO_3^-, HPO_4^{2-}, SO_4^{2-}

c. microelemente: Fe, Cu, Zn, Ni, Co, F, Br, I.

2. Substanțe organice:

a. azotate proteice: albumine, globuline şi fibrinogen;

b. azotate neproteice: uree, acid uric, creatinină, creatină, bilirubină, xantină, NH_3;

c. neazotate: glucidele şi lipidele.

Valoarea acestor componente este menținută în limite foarte strânse datorită homeostaziei.

Chiar dacă factorii exogeni acționează masiv, la un individ sănătos, se va intensifica procesul de metabolizare eliminându-se din organism produşii de catabolizare toxici, păstrându-se şi în aceste condiții valorile normale ale constituenților.

Apa

Apa reprezintă mediul ideal al reacțiilor biochimice, vehiculul care asigură transportul şi schimburile metabolice. Apa ocupă cea mai mare parte din organism reprezentând 2/3 (55 - 75%) din greutatea corporală.

Cantitatea totală de apă din organism este în funcție de vârstă, sex, adipozitate precum şi de țesutul explorat: țesutul nervos conține aproximativ 82 - 85%, plămânul, cordul şi rinichiul 75-80%, osul 30% iar dintele 10%.

Apa totală liberă este repartizată în două sectoare principale: celular şi extracelular.

***1.* Apa celulară** se găseşte în citoplasmă, nucleu, mitocondrii şi lizozomi. Ea reprezintă aproximativ 40% din greutatea corporală.

***2.* Apa extracelulară** este separată de cea celulară prin membranele celulare; cantitatea ei se determină cu ajutorul unor substanțe care difuzează rapid prin membranele capilare, dar nu prin cele celulare (manitol, inulină, tiocianat de sodiu). La adult, apa extracelulară reprezintă 20% din greutatea corporală. Ea este repartizată în mai multe compartimente: intravascular, interstițial, transcelular şi cel din țesutul conjunctiv dens (cartilaje şi oase).

***a.* Compartimentul intravascular** conține plasma sanguină şi limfa. Acestea reprezintă 5% din greutatea corporală. Cantitatea lor poate fi determinată fie cu ajutorul unor substanțe colorante (albastru Evans, roşu de Congo etc.), fie cu ajutorul albuminei marcate.

***b.* Compartimentul interstițial** reprezintă adevăratul „mediu intern" al organismului. Este vorba de un ultrafiltrat plasmatic care scaldă celulele, separat de compartimentul intravascular prin membranele capilare. Acestea permit o circulație hidroelectrolitică liberă, dar se opun ieşirii proteinelor din vase. Cantitatea de apă din compartimentul interstițial este dedusă prin scăderea volumului plasmatic din cel extracelular. Se admite că ea reprezintă 15% din greutatea corporală.

***c.* Compartimentul transcelular** se referă la lichidul cefalorahidian, la mediile lichidiene oculare şi articulare şi la lichidele din seroase; toate însumează aproximativ 200 mL sau 1,5% din greutatea corporală.

În acelaşi compartiment sunt înglobate arbitrar şi secrețiile glandelor digestive. Acestea, aproximate la un total zilnic de 6 - 8 L, se resorb aproape complet la nivelul diverselor segmente ale tubului digestiv.

***d.* Compartimentul hidric din ţesutul conjunctiv dens** (cartilaje şi oase) reprezintă aproximativ 10% din greutatea corporală. Apa acestui compartiment se deplasează lent şi are schimburi foarte reduse cu restul lichidelor organismului.

Balanţa hidrică

În condiţii normale organismul nu întâmpină nici o dificultate în procesul de înlocuire a pierderilor fiziologice de lichide.

Cantitatea de apă cât şi ceilalţi constituenţi ai sângelui îşi păstrează o valoare aproape constantă datorită unui control riguros exercitat de către organism printr-un mecanism fiziologic propriu-zis şi prin mecanisme hormonale.

Reglarea apei în sectorul extracelular este dependentă de sodiu ale cărui modificări vor duce la modificările bilanţului hidric.

Reglarea apei în sectorul intracelular este dependentă de osmolaritatea lichidelor extracelulare.

Reglarea hormonală este efectuată de către:

- hormonul antidiuretic (ADH) care controlează reabsorbţia apei la nivelul tubului contort distal şi colector al nefronului. În cazul unor leziuni care duc la blocarea secreţiei hipotalamice de ADH, se instalează *diabetul insipid.*
- Aldosterona participă la menţinerea homeostaziei hidrice şi electrolitice prin rolul său de a reabsorbi Na^+ la nivelul tubului contort distal şi în mod secundar determină eliminarea renală de H^+, K^+ şi NH_4^+. Controlul secreţiei de aldosteronă este realizat prin factori multipli printre care sistemul renină-angiotensină, kalemia, natremia şi concentraţia plasmatică de ACTH.
- Aceste mecanisme predomină în afara cazului când se produc schimbări în volumul extracelular sau intervin alţi factori semnificativi incluzând diferiţi hormoni sau modificări în circulaţia sanguina renala, cum sunt:

▪ *Hormonii estrogeni* şi *insulina*, măresc reabsorbţia ionilor de Na^+ şi a apei iar progesteronul şi glucagonul le diminuă. Aşa se explică retenţia hidrosodată în partea a doua a ciclului, mai ales în lipsa progesteronului (sindrom premenstrual).

▪ *Parathormonul* acţionează la nivelul tubului contort proximal şi distal şi influenţează reabsorbţia ionilor de Na^+, Ca^{2+}, fosfaţi.

▪ *Hormonii tiroidieni* intervin prin stimularea filtrării glomerulare şi diminuarea reabsorbţiei tubulare. Aşa se explică de ce carenţa hormonală din mixedem este însoţită de obicei de retenţie apoasă.

Aportul de apă în organism poate avea o proveniență:

- *exogenă:* din ingestia apei ca atare sau sub forma apei conţinute în alimente (aproximativ 2000 mL/24 h);

- *endogenă:* din oxidarea principiilor imediate în cadrul metabolismului intermediar. Astfel din metabolismul a 100 g proteine rezultă 46 mL apă; din 100 g lipide rezultă 107 mL apă iar din 100 g glucide 55 mL apă.

Există o interdependență între apă formată și cea eliminată.

Eliminarea apei se face pe cale: renală, cutanată și digestivă și pulmonară.

a. *Prin perspirație insensibilă* (saturare cu vapori de apă a aerului expirat) se pierd zilnic aproximativ 400 mL apă. Această cantitate este mult depășită în stări patologice însoțite de febră.

b. *Prin perspirație sensibilă* (evaporare transcutanată) se pierd zilnic între 200-500 mL apă.

Intensitatea pierderilor prin perspirație insensibilă și sensibilă nu poate fi reglată.

c. *Prin eliminări hidrice digestive.* Sunt minime la omul normal. Prin fecale se elimină aproximativ 150 mL/24 ore.

d. *Eliminările hidrice renale* sunt egale în medie cu 1500 mL/24 ore (cu variații între 700 - 1700 mL/24 ore). Ele reprezintă elementul reglabil și cel mai mobil al pierderilor lichidiene. Această eliminare de apă este reglată pe cale hormonală de către hormonul antidiuretic hipofizar (ADH) și prin aldosteronă.

Anomalii ale echilibrului hidroelectrolitic

În numeroase afecțiuni se produc alterări ale echilibrului hidroelectrolitic. De cele mai multe ori ele sunt consecința dezechilibrului între aport și pierderi.

În majoritatea cazurilor, tulburările interesează atât apa cât și sodiul. Există însă situații când perturbarea afectează cu predominanță unul din aceste două compartimente.

Pierderea în exces a apei (deshidratările)

Această anomalie se poate instala în următoarele condiții:

- secreție sudorală excesivă;
- vărsături abundente;
- pierderi de scaune fluide cu un conținut sărac în sodiu (gastroenteritele sugarilor);
- diureză exagerată în caz de deficit de vasopresină (diabet insipid) sau în caz de lipsă de răspuns a tubilor renali la stimulul hormonal (diabet insipid sau nefrogen).

Deficitul de apă se poate întâlni şi în caz de aport insuficient de apă sau ca urmare a unor afecţiuni bucofaringiene care limitează ingestia de apă (naufragiaţi, persoane pierdute în deşert, stări comatoase)

Pierderile excesive de apă sunt însoţite, aproape constant de o pierdere, mai mare sau mai mică de electroliţi.

Raportul dintre cantitatea de apă şi Na^+ din lichidul pierdut permite clasificarea deshidratărilor astfel:

a) deshidratări hipertone – când pierderea de apă este mai mare decât cea de Na^+.

b) deshidratări hipotone – când se pierde mai mult Na^+ decât apă.

c) deshidratări izotone – când are loc o pierdere concomitentă şi proporţională de apă şi Na^+.

a) Deshidratările hipertone (globale) interesează în primul rând sectorul extracelular. Pierderile de apă superioare celor de Na^+ produc deshidratări caracterizate prin hiperosmolaritatea lichidelor extracelulare. Aceasta stimulează secreţia de ADH şi aldosteron, urmată de scăderea compensatorie a eliminărilor urinare (oligurie). În acelaşi timp deshidratarea stimulează senzaţia de sete care va contribui şi ea la corectarea deshidratării. Dacă aceste mecanisme nu au loc, corectarea hiperosmolarităţii extracelulare se face prin atragerea apei din celule. Se produce astfel o deshidratare celulară cu pierderi de K^+ ceea ce duce la scăderea presiunii osmotice din celule şi la deshidratarea globală. Cazurile grave se manifestă prin senzaţie intensă de sete, hipotonia globilor oculari, mucoase uscate, uneori febră, bradicardie, hipotensiune, oligurie şi în cazuri grave manifestări neuropsihice (astenie, somnolenţă, halucinaţii, confuzie mintală). Când pierderile de apă depăşesc 15-25% din greutatea corporală se instalează starea de comă cu sfârşit letal prin stop respirator.

b) Deshidratările hipotone sunt produse de pierderile de Na^+ în exces faţă de pierderile de apă întâlnite în situaţiile patologice în care rinichiul nu mai are capacitatea de a reţine Na^+, cum sunt: insuficienţa renală cronică în stadiu poliuric, "nefrita care pierde sare", în insuficienţă corticosuprarenală, în administrări îndelungate de diuretice.

Poliuria apoasă duce la pierderea unor cantităţi apreciabile de apă din organism şi instalarea hipovolemiei. Scăderea presiunii osmotice a lichidelor extracelulare prin hiponatremie favorizează transferul apei din sectorul extracelular în cel celular. Astfel are loc un sindrom de deshidratare extracelulară şi hiperhidratare celulară.

Manifestările clinice sunt datorate hipovolemiei. Când deficitul de sodiu este mare, apar manifestări nervoase ale hiperhidratării celulare sub formă de greață de apă, crampe musculare, confuzie, delir.

c) Deshidratările izotone sunt consecința pierderilor concomitente şi echilibrate de apă şi electroliți, care sunt produse de: hemoragii acute, pierderi de lichide digestive, administrări de diuretice în cantitate mare. Pierderile de lichide izotone duc la instalarea hipovolemiei care are ca urmare scăderea debitului cardiac, a fluxului sanguin renal (care are ca efect compensator scăderea filtrării glomerulare şi a diurezei), tahicardie, hipotensiune arterială, senzație de sete.

Subliniem faptul că variațiile de volum extracelular sunt direct legate de variațiile conținutului de sodiu în organism.

Deshidratarea extracelulară nu este niciodată legată de un deficit al aportului izolat de sodiu, când funcția renală este normală, ea este întotdeauna secundară unei pierderi extra-renale de Na^+

Pe plan fiziopatologic perturbările inițiale au loc în sectorul extracelular şi modificările intracelulare sunt întotdeauna secundare.

Retenția în exces a apei (Hiperhidratările)

Hiperhidratările sunt sindroame caracterizate prin retenții apoase însoțite de un bilanț sodic pozitiv. Ele pot fi extracelulare, celulare sau globale.

A. *Hiperhidratările extracelulare. Edemele*

Edemul reprezintă prezența în țesuturile organismului a unui exces de lichid. Apare în special în compartimentul extracelular, dar poate să apară şi în lichidul intracelular. În patologia edemelor există un număr mare de cauze. Acestea pot fi clasificate în :

a) edem produs de extravazarea exagerată de lichid din capilare sau de obstrucția limfatică şi;

b) edem produs de retenția de apă şi sare.

Mecanismele care provoacă edemele se pot asocia sau interfera în funcție de afecțiunea care provoacă edemul.

- Una din cele mai frecvente cauze de edem în organism este insuficiența cardiacă, producând edem prin mai multe mecanisme. În primul rând, inima nu mai poate pompa sângele din vene în artere în mod normal, astfel creşte presiunea în vene şi în capilare. În al doilea rând presiunea arterială tinde să scadă ceea ce se repercută asupra irigării rinichiului ducând la scăderea eliminării urinare de apă şi Na^+ de către rinichi.
- O altă cauză este diminuarea proteinemiei, în special hipoalbuminemiei prin tulburări de aport proteic (subnutriție) prin deficit

de absorbție intestinală (malabsorbție, diaree, vărsături), pierderi de proteine pe cale renală (nefroze), pe cale cutanată (arsuri grave). Toate acestea determină modificarea repartiției intercompartimentale a apei prin scăderea presiunii coloidosmotice din vas şi creşterea acesteia în lichidele compartimentului interstițial.

- Maladiile care compromit funcția renală au tendință marcată de a reduce excreția de apă şi a ionilor de Na+ prin urină, ducând la edem extracelular şi la hipertensiune datorită creşterii volemiei ca în cazul glomerulonefritei.
- Edemul din ciroza hepatică decompensată când debutează cu ascită asociată cu retenție hidrosalină, hipertensiune şi hipoalbuminemie.

B. *Hiperhidratările celulare* sunt de cele mai multe ori consecința reducerii eliminărilor hidrosaline datorită fie alterării funcțiilor renale, fie datorită unor tulburări endocrine care afectează funcțiile rinichiului.

C. *Hiperhidratările globale* sunt formele cele mai grave de acumulări hidrosaline în toate sectoarele, asociată cu deficit de eliminare. Asemenea situații se întâlnesc în hipersecreții de ADH produse de diverse agresiuni (traumatisme, intervenții chirurgicale, infecții acute, administrări de barbiturice, morfină, anestezice), în leziuni renale, nefropatii cronice, insuficiență renală acută cu surplus de apă endogenă, injectare masivă de seruri glucozate.

Examenele de laborator

Privind dezechilibrele hidrice urmăresc determinările: sodiului, a osmolarității, hemoconcentrației (Hb, Ht, proteine), azotemia şi calculului deficitului hidric, după formula:

$$\text{Deficit hidric} = 0{,}6 \times G_{pacient} \times 1 - \frac{140}{Na^+ \text{ actual}}$$

iar refacerea osmolarității lichidului extracelular se determină prin administrarea de soluții NaCl (10%, 20%) după formula:

Cantitatea necesară de $mEqNa^+ = (140 - Na^+_{actual}) \times (G \times 0{,}6)$

Electroliții

Electroliții îndeplinesc multiple roluri în organism, orice activitate biologică necesitând prezența unei concentrații şi a unui anumit echilibru al acestora.

Electroliții din sânge se grupează în: - cationi
- anioni.

În funcție de conținutul în organism, elementele minerale se pot clasifica în două categorii: • **macroelemente:** sodiu, potasiu, calciu, fosfor, clor.

• **microelemente** (oligoelemente): cuprind elementele chimice considerate componenete esențiale pentru organismul uman care se găsesc în cantități foarte mici: fier, cupru, zinc, nichel, cobalt, mangan, seleniu, crom.

Cationii

Sodiul

Este principalul cation al lichidului extracelular, fiind într-o concentrație de 310 - 345 mg/dL (143 mEq/L plasmă). Din totalul de sodiu al organismului 98% se găseşte în sectorul extracelular şi numai 2% în sectorul intracelular. Concentrația Na^+ este mai mare decât a celorlalți cationi, el fiind principalul factor al reglării presiunii osmotice şi al echilibrului acido-bazic. Între concentrația Na^+ (extracelular) şi cel al K^+ (intracelular) există un echilibru ce se realizează printr-un mecanism de transport activ la nivelul membranelor celulare, aşa numita „pompă" de electroliți.

Aportul de Na^+ (6 -15 g/zi) se face în special sub formă de NaCl, prin apa potabilă şi alimente; absorbția lui împreună cu absorbția Na^+ conținut în sucurile digestive se face aproape complet în prima jumătate a ileonului şi este practic terminată în colonul distal.

Eliminările de Na^+ se fac prin urină, fecale şi transpirație. Prin urină se elimină în proporție de 95%. Prin transpirație se elimină 0,5%, iar prin fecale 4,5% din cantitatea totală eliminată.

Excreția de ioni de Na^+ prin rinichi este reglată direct de *aldosteron* care controlează reabsorbția la nivelul tubului contort distal. Aldosterona participă la menținerea homeostaziei hidrice şi elecrolitice.

Homeostazia sodiului este complexă şi strâns legată de retenția de apă. Retenția ionilor de Na^+ antrenează retenția de apă.

Excreția de apă prin rinichi este controlată de către hormonul antidiuretic (ADH) care asigură reabsorbția apei la nivelul tubului contort distal şi colector. Tendința către hiponatremie diminuă secreția de ADH şi promovează pierderile renale de apă, iar creşterea secreției de ADH creşte reabsorbția apei.

Funcțiunile Na^+

- condiționează deplasarea moleculelor de apă din diferite compartimente ale organismului.

- intervine în menținerea echilibrului acido-bazic, deoarece sistemele tampon conțin componente alcaline.
- intervine în excitabilitatea neuromusculară. Szent-Györgyi stabileşte o constantă de care depinde excitabilitatea neuromusculară:

$$K = \frac{Na^+ - K^+}{Ca^{2+} - Mg^{2+} - H^+}$$

- este responsabil de menținerea volumului lichidelor extracelulare şi de osmolaritate.

Variațiile cantitative ale natremiei se traduc prin creşterea (hiper-) sau scăderea (hiponatremia) sodiului în sânge.

Hipernatremiile se instalează când valoarea concentrației plasmatice a Na^+ depăşeşte 150 mEq/L şi care duce la creşterea simultană a osmolarității.

Pe fondul unui rinichi normal, aportul excesiv de sare produce foarte rar hipernatremie, deoarece rinichiul poate elimina cantități considerabile de sare.

Hipernatremiile exprimă cel mai frecvent pierderi de apă şi nu acumulări de Na^+. Este vorba de hipernatremii prin concentrare. Acestea se instalează mai ales când pierderile de lichide biologice sunt extrarenale (cutanate: transpirații excesive; pierderi digestive: diaree, vărsături) sau renale: diabet insipid, insuficiență renală. Hipernatremiile se mai întâlnesc în traumatisme cerebrale, hiperaldosteronism.

Hipernatremiile însoțesc întotdeauna hiperosmolaritatea extracelulară care atrage apa din celule. Aşa se explică de ce manifestările clinice ale hipernatremiilor sunt cele ale deshidratărilor celulare.

Cazurile grave de deshidratări hiperosmolare se manifestă clinic prin sete chinuitoare, facies deshidratat, globii oculari hipotoni şi înfundați în orbite, mucoase uscate, dificultăți de deglutiție, pierderi de greutate, bradicardie, hipotensiune, oligurie, şi în cazuri foarte grave manifestări neuropsihice (astenie, somnolență, agitație, confuzie mintală). Când pierderile hidroelectrolitice depăşesc 1/15 – 1/25 din greutatea corporală se instalează starea de comă cu sfârşit letal prin stop respirator.

Hiponatremiile (Na^+ seric sub 130 mEq/L) se instalează după aport salin insuficient, în deshidratări globale, datorită unei ingestii scăzute de lichide, poliurii survenite în diabetul zaharat, în insuficiența renală cronică, în stadiul poliuric, în condițiile în care rinichiul nu mai are capacitatea de a reține Na^+, "nefrita care pierde sare". În insuficiență corticosuprarenală prin lipsa mineralocorticoizilor când au loc pierderi

urinare excesive de Na^+. Hiponatremie se mai întâlneşte după administrări îndelungate de diuretice.

Pierderile de Na^+ tind să scadă presiunea osmotică a lichidelor extracelulare. Aceasta inhibă secreţia de ADH, poliuria apoasă duce la pierderea unor cantităţi apreciabile de apă şi respectiv la *hipovolemie.*

Hiponatremia hipotonă reprezintă din punct de vedere fiziologic adevărata hiponatremie.

Hiponatremia cu scăderea volumului de lichide extracelulare (hipovolemică) apare în urma pierderilor de apă şi sodiu pe cale renală sau extrarenală când sodiul total din organism este scăzut. Pentru a menţine volumul intravascular la valori normale va creşte secreţia de hormon antidiuretic (ADH) care acţionează la nivel renal prin retenţia apei libere, în defavoarea menţinerii unei osmolarităţi plasmatice normale.

Hiponatremia hipertonă se întâlneşte cel mai frecvent în hiperglicemie. Când glicemia creşte brusc, apa este scoasă din celule şi ajunge în spaţiul extracelular, diluând sodiul seric. Nivelul sodiului plasmatic scade cu 1,6 mEq/L pentru fiecare 100 mg/dL de glucoză care depăşeşte valoarea sanguină de 200 mg/dL. Se produce astfel o hiponatremie de diluţie.

Manifestările clinice sunt cele ale unei deshidratări extracelulare grave. Când deficitul sodic este intens apar manifestările nervoase sub formă de "greaţă de apă", slăbiciune, letargie, somnolenţă, confuzie, delir care, în general devin manifeste la o valoare sub 120 mEq/lNa^+ din ser.

Determinarea sodiului în laboratorul clinic

Determinarea sodiului se face actual prin metode fizice: fotometrie de emisie sau potenţiometric cu electrozi specifici.

- *Fotometria de emisie* se bazează pe faptul ca sodiul introdus în flacără formează o bandă caracteristică la 589 nm, a cărei intensitate este proporţională cu concentraţia.
- *Potenţiometria cu electrozi specifici* constă în măsurarea diferenţei de potenţial între electrodul de referinţă cu concentraţia cunoscută de ioni alcalini şi electrodul "ion selectiv" al probei necunoscute. Un electrod ion specific poate fi considerat ca un dispozitiv electrochimic constituit dintr-o membrană la suprafaţa căreia se produc modificări ionice pe cât se poate de specifice. Folosirea electrozilor specifici cu membrane de sticla speciale se utilizează actualmente curent deoarece ele sunt încorporate în analizatoare automate.
- *Metodele chimice* sunt abandonate (valabil pentru toţi ionii), ele se mai utilizează doar în laboratoarele care nu dispun de analizatoare şi în scop didactic la studenţi. Astfel, sodiul se determină volumetric

având ca principiu fixarea sub formă de precipitat triplu de sodiu, magneziu şi uranil. Precipitatul format se poate dizolva în apă şi titra cu NaOH în prezența fenolftaleinei ca indicator.

Potasiul

Deoarece potasiul este un electrolit localizat cu predominență intracelular, variațiile potasiului plasmatic dau doar indicații aproximative asupra cantității totale de K^+ din organism. Aproximativ 90% din potasiul organismului se găseşte în citoplasma celulelor, şi în special în musculatura striată, miocard, hematii (40 - 400 mEq/L. În sectorul extracelular şi în plasmă, potasiul se găseşte într-o concentrație medie de 4,5 mEq/L (16 - 20 mg/100 mL ser).

Importanța K^+ rezultă din multiplele funcții pe care le îndeplineşte sau la care participă, şi anume:

- Rolul plastic, K^+ fiind un constituent al țesuturilor în care se găseşte fixat de proteine.
- Prezintă un rol important în fenomenele de membrană, în procesele de permeabilitate, schimburile la nivelul membranei efectuându-se cu ieşirea K^+ din eritrocit şi pătrunderea în cantitate echivalentă a Na^+ şi H^+.
- Prezintă importanță în procesul de anabolism al glucidelor şi lipidelor, fenomen caracterizat prin retenția de K^+. În procesele de catabolizare se antrenează eliberarea K^+ din eritrocite.
- K^+ infuențează transmiterea influxului nervos; participă la contracția musculară, proteinele fibrelor musculare, actina şi miozina, necesitând în procesul contractil o anumită cantitate de K^+. Acest lucru este foarte important în special pentru contracția miocardului.
- Influențează excitabilitatea neuromusculară, scăderea numărătorului din constanta lui Szent-György, respectiv creşterea numitorului fiind urmată de diminuarea excitabilității, iar modificările în sens invers ducând la creşterea acesteia.

Aportul alimentar de potasiu (fructe, legume şi carne) este de 3 - 5 g (80 - 120 mEq/L) şi acoperă nevoile zilnice de K^+ care sunt de 2 - 4 g. Din acest motiv carențele de K^+ prin lipsă de aport sunt excepțional de rar întâlnite.

Eliminările de potasiu sunt echilibrate cu ingestia şi se efectuează mai ales pe cale urinară (75 mEq/zi) în timp ce eliminările prin fecale nu depăşesc 10 mEq/zi. În consecință, reglarea metabolismului potasiului se exercită prin intermediul rinichilor.

Anomalii în metabolismul potasiului

Hipopotasemiile

Scăderi sub 3,5 mEq/L ale potasiului seric se produc mai ales ca urmare a unor pierderi digestive sau urinare. Pierderile digestive

survin în cursul vărsăturilor rebele (disgravidii, stenoză pilorică), în diareile acute sau prelungite sau în caz de fistule digestive.

Pierderile renale se produc în primul rând datorită unei reabsorbții tubulare defectuoase (nefropatii tubulare), acidoze diabetice, administrări prelungite de diuretice (furosemidul, tiazida, acetazolamida), a hiperhidratării, cât şi datorită unor tulburări de repartiție a K^+ între sectorul celular şi extracelular cu migrarea masivă a acestuia din celule în plasmă şi a Na^+ din plasmă în celule (fenomen numit transmineralizare), (perfuzii mari de glucoză, comă diabetică etc.).

Printre cauzele renale ale deficitului de potasiu amintim şi sindromul Fanconi în care pierderile de potasiu se însoțesc şi de glicozurie, fosfaturie şi aminoacidurie. De asemenea hiperaldosteronismul primar (sindromul Conn) şi hipercorticismul din maladia Cushing duc la pierderi exagerate de K^+ prin urină.

Examenele de laborator confirmă hipokalemia şi în funcție de cauza acesteia şi tulburările biochimice asociate: scăderea Na^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, creşterea HCO_3^- şi a pH-ului. Determinarea K^+ în urină poate releva cauza hipokalemiei: când excreția urinară de K^+ este mai mică de 20-25 mEq/24 ore, cauza hipokalemiei este digestivă (pierderi gastrointestinale), iar când pierderile renale sunt mai mari de 25mEq/24 ore, cauza este renală.

Simptomatologia deperditiei de potasiu este dominată de manifestări neuromusculare caracterizate prin astenie extremă şi hipotonie musculară. La nivelul musculaturii netede, deficitul de potasiu cauzează de asemenea o hipotonie care evoluează cu constipație. Suferința miocardului se trădează mai ales prin semne electrocardiografice.

Corecția hipopotasemiei se realizează prin administrarea de aproximativ 3 g KCl/zi pe cale orală.

Hiperpotasemiile

Creşteri peste 5,5 mEq/L ale potasiului seric survin atunci când viteza de ieşire din celule depăşeşte posibilitățile de excreție. Acestea apar în distrugeri celulare asociate cu alterări ale funcției renale (arsuri întinse, pancreatite acute hemoragice, necroze viscerale, hemolize masive).

Hiperpotasemii se mai întâlnesc în insuficiențe renale acute şi cronice, precum şi în cele corticosuprarenale.

Manifestările clinice ale hiperpotasemiei sunt mai ales de natură cardiovasculară. Aceste manifestări pot surveni destul de precoce şi iau adeseori aspecte extrem de grave. De altfel o creştere a potasemiei peste 9 mEq/L este incompatibilă cu viața. Suferința miocardică produsă de hiperpotasemie se manifestă prin semne electrocardiografice.

Determinări în laboratorul clinic

- Metoda cea mai utilizata este *fotometria de flacară*, ionul de potasiu având 2 benzi caracteristice la 405 nm şi 706 nm. Banda de la 767 nm este mult mai caracteristică şi sensibilitatea este superioară celei de Na^+.
- *Metoda potenţiometrică cu electrozi specifici.*
- Vechile *metode chimice* care au la bază principiul precipitării ionilor de K^+ cu cobaltonitril de sodiu rezultând cobaltonitrit de sodiu şi potasiu sub forma unui precipitat galben $K_2Na[Co(NO_2)_6]$. Grupările nitrit sunt oxidate la nitrat prin adăugare în exces de $KMnO_4$. Surplusul de $KMnO_4$ este titrat cu acid oxalic.

Calciul

În sânge, întreaga cantitate de calciu se găseşte în plasmă, eritrocitele fiind practic lipsite de acest ion. La omul normal calciul plasmatic total are o concentraţie cuprinsă între 8,5 – 10,5 mg/dL, la copii 9,5 – 11,5 mg/dL (media 5 mEq/L) cu mici variaţii care depind de vârstă şi alimentaţie.

Calciul circulă în plasmă în mai multe fracţiuni:

- legat de proteine (calciu nedifuzabil, nedializabil) în proporţie de aproximativ 45%;
- ionizat, în proporţie de 48% (2,1 - 2,7 mEq/L);
- dializabil (difuzibil, ultrafiltrabil) neionizat (sub formă mai ales de citrat, fosfat) în proporţie de 3 - 4%;
- neidentificabil (cca 3%).

Din toate acestea, fracţiunea fiziologică activă, a cărei concentraţie constituie stimulul specific pentru secreţia de parathormon (PTH) şi calcitonină (CT) este cea ionică. Ea variază invers proporţional cu pH-ul: acidoza măreşte gradul de ionizare a calciului şi scade cantitatea de mineral fixată de proteinele plasmatice.

Calciul nedializabil este cuplat în special cu serumalbumine. Variaţii mari ale proteinemiei şi în special ale concentraţiei serice a serumalbuminei pot atrage după ele variaţii importante ale calcemiei totale. Aceste variaţii sunt lipsite de consecinţe fizipatologice, întrucât ele nu afectează concentraţia calciului ionizat. Calciul fixat de proteine reprezintă o formă inactivă fiziologic şi constituie probabil doar o formă de transport prin plasmă.

Ionul de calciu intervine ca un factor decisiv în procesul de excitabilitate musculară, de permeabilitate celulară şi capilară, realizând împreună cu ionul Mg^+ un adevărat ecran protector al celulei; este unul dintre componenţii procesului de coagulare şi fibrinoliză.

Aportul de calciu este în funcție de regimul alimentar şi de capacitatea de absorbție a intestinului. Alimente bogate în calciu sunt laptele, brânzeturile, gălbenuşul de ou.

Necesarul de calciu al unui adult este aproximativ de 0,6-0,8 g/zi. În graviditate şi în perioada de lactație necesitățile cresc la 1,2 – 1,3 g/zi.

Absorbția calciului este sub control hormonal şi vitaminic fiind favorizată de către vitamina D, parathormon, hormonii sexuali. Absorbția calciului mai depinde de:

- forma ingerată (clorurile, gluconații, lactații străbat uşor mucoasa intestinală);
- aciditatea gastrică favorizează transformarea sărurilor insolubile în săruri solubile şi ionizarea lor;
- compoziția rației alimentare: lactoza, acizii organici prezenți în fructe (citric, tartric) favorizează absorbția; triptofanul, lisina măresc solubilitatea;
- absorbția este influențată şi de vârstă, ea scăzând cu înaintarea în vârstă.

Dar absorbția poate fi şi inhibată de către:

- unele medicamente cum sunt cortizonul care are acțiune antivitaminica D;
- de către cereale care conțin acid fitic şi de către alimentele care conțin acid oxalic, prin formarea de săruri de calciu nedisociabile;
- excesul de acizi graşi, în caz de deficit de bilă, care vor forma săpunuri de calciu insolubile în apă;
- alcoolul diminuă absorbția calciului.

Numeroase cercetări au demonstrat faptul că ionii de calciu au proprietatea de a menține normală presiunea sanguină. Persoanele care consumă cel puțin 1 g de calciu pe zi scad riscul unei hipertensiuni arteriale cu 20%.

De asemenea calciul are un rol în menținerea tensiunii arteriale în timpul sarcinii. Cercetările au demonstrat că în țări ca Guatemala şi Etiopia femeile cu o dietă scăzută în calorii dar cu un conținut crescut în calciu au prezentat edeme, proteinurie şi hipertensiune arterială în proporție mai redusă pe toată perioada sarcinii.

Pierderile de calciu se efectuează prin urină şi fecale. Calciul fecal reprezintă nu numai calciul alimentar neabsorbit dar şi cel secretat activ de intestin. Pierderile urinare de calciu sunt mici, depinzând de conținutul de calciu al alimentelor.

Reglarea calcemiei. Principalul factor de reglare a calcemiei este hormonul paratiroidian, secretat de glandele paratiroide. Calcitonina, produsă în glandele tiroide, are efecte opuse hormonului paratiroidian asupra nivelului calcemiei. Ambii hormoni reglează nivelul calciului ionic

pe seama rezervelor de calciu din oase. Vitamina D creşte absorbţia de calciu din intestin.

Tulburările calcemiei

Calcemia reprezintă una din constantele umorale fundamentale pentru desfăşurarea normală a anumitor activităţi vitale; variaţiile ei, chiar minime, indică alterări profunde ale corelaţiilor dintre aportul, depozitarea şi eliminarea calciului. Acestea duc la hiper- sau hipocalcemii şi se repercutează asupra fosfatemiei.

Hipocalcemiile

În prezenţa unei hipocalcemii este important să se precizeze dacă scăderea calciului se realizează pe seama celui ionizat sau pe seama celui legat de proteine.

Scăderea calciului nedifuzibil (legat de proteine) însoţeşte orice hipoproteinemie (în sindrom nefrotic, denutriţie etc.). Scăderea calciului legat de proteine nu se repercută asupra excitabilităţii neuromusculare şi are deci o semnificaţie clinică minoră.

Scăderea calciului ionic se întâlneşte cel mai adesea în *insuficienţa paratiroidiană*. În lipsa hormonului paratiroidian se produce un deficit în procesul de mobilizare a calciului din oase şi în procesul de eliminare urinară a fosfaţilor. În consecinţă, hipocalcemia se va însoţi de o creştere a fosfatemiei. Scăderea calciului ionic duce la creşterea excitabilităţii neuromusculare ce se manifestă clinic sub forma *tetaniei* paratireoprive. Se constată o creştere a tonusului muscular, spasme ale musculaturii extremităţilor, spasm al glotei şi uneori convulsii generalizate.

Hipocalcemie şi hiperfosfatemie, asociate cu o retenţie de uree se constată şi în *insuficienţa renală.*

În carcinomul tiroidian s-au descris hipocalcemii asociate cu hipofosfatemii cauzate de o *hipersecreţie de calcitonină.*

Pancreatita acută poate provoca o hipocalcemie trecătoare datorită precipitării săpunurilor de calciu, produse în urma eliberării crescute de acizi graşi rezultaţi din lipoliză. Se ştie că în pancreatita acută se eliberează din ţesutul necrozat lipază.

În *deficitul de vitamină D*, de exemplu în *rahitism* la copii şi osteomalacie la adulţi (poate contribui la apariţia osteoporozei) hipocalcemia se însoţeşte de hipofosfatemie, deoarece în lipsa acestei vitamine suferă atât absorbţia intestinală a calciului cât şi cea a fosfaţilor.

O cauză importantă a hipocalcemiei este malabsorbţia dată de diverse tulburări digestive: leziuni digestive, accelerarea tranzitului intestinal, diareea, hipoaciditatea gastrică.

Manifestările clinice. Hipocalcemia creşte excitabilitatea celulelor nervoase şi musculare, afectând în principal aparatul cardiovascular şi sistemul neuromuscular. Spasmele extensive ale musculaturii scheletice produc crampe şi semne de tetanie. Mai pot apărea convulsii, parastezii ale buzelor şi extremităţilor şi durerii abdominale. Semnul Chvostek (contracţia muşchiului facial ca răspuns la percuţia uşoară a nervului facial la nivelul osului imediat anterior urechii) este pozitiv.

Hipocalcemia prelungită duce şi la *suferinţe trofice*, cu friabilitatea părului şi unghiilor. Perturbările în metabolismul cristalinului, induse de o hipocalcemie cronică, pot cauza cataractă. Se pare că hipocalcemia cronică poate favoriza apariţia unor stări depresive şi a altor manifestări de natură psihică.

Hipercalcemiile

Creşterea *calciului legat de proteine* survine doar în caz de hemoconcentraţie şi nu are semnificaţie funcţională sau clinică.

Creşterea *calciului ionizat* prezintă o semnificaţie deosebită întrucât ea denotă, de cele mai multe ori, o decalcifiere a ţesutului osos, iar eliminările crescute de calciu pot provoca leziuni ale tubilor.

Dintre toate formele, cele mai frecvente hipercalcemii sunt determinate de: *hiperparatiroidism* prin mobilizări excesive de săruri de calciu din depozitul mineral osos, defecte de eliminare, şi mai rar hipocalcemiile pot fi produse de un exces de vitamina D, aport exagerat de calciu, nefropatii cronice, boli endocrine neparatiroidiene.

Sindromul lapte-alcaline se observă la pacienţii trataţi cu substanţe alcaline şi care consumă mult lapte (calmează durerile).

Modificarea excitabilităţii neuromusculare apare adeseori în hiperparatiroidiile care evoluează cu creşteri marcate ale calcemiei. Scăderea excitabilităţii neuromusculare, în musculatura striată şi netedă, sunt în măsură să explice atât hipotonia musculară, cât şi constipaţia rebelă a acestor pacienţi.

Hipercalcemiile ce însoţesc afecţiunile maligne ale oaselor se produc atât prin acţiunea locală distructivă, cauzată de procesul malign, cât şi prin eliberarea, în unele cazuri, a unor peptide cu acţiune similară cu cea a hormonului paratiroidian, PTHr-P (parathyroid hormone-relatid protein).

Determinări de laborator

- *Metode fizice*

- Ca metodă de referinţă se utilizează *fotometria de absorbţie atomică.* Se măsoară absorbţia benzii situate la 422,67 nm.

- *Fotometria de flacară.* Spectrul calciului prezintă mai multe benzi caracteristice la 422 nm (de intensitate slabă), la 554 nm, la 570 nm şi 622 nm.

- *Metode bazate pe folosirea electrozilor specifici.*

• *Metode chimice*

- *Metoda complexonometrică cu EDTA* utilizând purpuratul de amoniu (murexid) ca indicator.

- *Metoda Wood* care are ca principiu precipitarea calciului sub formă de oxalat de calciu, tratarea cu acid şi eliberarea acidului oxalic care se titrează cu o soluţie de $KMnO_4$.

- *Metoda colorimetrică cu o-crezolftaleina* complexon care împreună cu ionii de calciu, în mediu alcalin, formează un complex de culoare violet, colorimetrabil.

Magneziul

Magneziul are o localizare predominant intracelulară. Intervine în procesele biochimice sub forma unor factori complementari în reacţiile enzimatice. Până în prezent se cunoaşte că magneziul infuenţează peste 60 de sisteme enzimatice, cum ar fi: transferul de ioni de fosfat şi fosforilarea oxidativă, sinteza de acizi nucleici şi sintezele proteice. Magneziul intervine în procesul de activare al acizilor aminaţi. Are de asemenea un rol important în contracţia musculară şi în transmiterea influxului nervos.

Magneziul seric se găseşte într-o concentraţie de 2 - 2,2 mg/100 mL (1,5 - 1,8 mEq/L).

Aproximativ 35% din magneziul plasmatic este legat de proteine, restul se află sub formă de ioni liberi.

El îndeplineşte o serie de **funcţiuni** în organism, dintre care amintim participarea la metabolismul intermediar al glucidelor, lipidelor şi proteinelor, favorizează absorbţia calciului, a fosforului, potasiului şi sodiului.

Magneziul este direct implicat în excitabilitatea neuromusculară şi are rol în reglarea temperaturii corpului.

Are rol de asemenea în utilizarea vitaminelor din complexul B, a vitaminei C şi E şi în menţinerea presiunii arteriale normale la diabeticii non-insulinodependenţi. Este un antiagregant plachetar.

Necesarul de magneziu zilnic este cuprins între 300 - 350 mg.

Surse bogate în magneziu sunt: cerealele, fasolea, soia, merele, smochinele, bananele, carnea, diferite organe: ficat, rinichi, splină, peşte, scoici.

Sunt puţin cunoscute încă mecanismele de reglare ale magnezemiei, care par a avea loc la nivelul tubilor renali şi ar putea fi influenţate de hormonul paratiroidian şi de aldosteron.

Modificări patologice ale metabolismului magneziului
Hipomagnezemii

Principalele cauze ale carenței de magneziu sunt:

- pierderi pe cale digestivă: malnutriție, maldigestie, malabsorbție, diaree prelungită;
- pierderi pe cale renală - în toate cazurile în care este diminuată reabsorbția tubulară;
- după administrări prelungite de diuretice;
- unii etilici, pe lângă hipocalcemie pot prezenta şi hipomagnezie;
- boli endocrine : boala Addison, hiperparatiroidism primar;
- hipomagnezemiile la noul născut, care se datoresc:
  - disgravidiei care poate duce la o scădere a magneziului în organismul matern, cu repercusiuni asupra capitalului de magneziu la nou-născut;
  - creşterea rapidă a copilului în primele luni de la naştere, respectiv sinteza accelerată de proteine, caracteristică acestei perioade, care implică necesități crescute de magneziu;
  - laptele este un aliment relativ sărac în magneziu.
- în hipoparatiroidism, hipomagnezemia poate însoți hipocalcemia;
- o hipomagnezemie prelungită şi în absența hipocalcemiei poate fi însoțită de tetanie, spasmofilie;
- hipomagnezemia poate însoți hipokalemia după o terapie cu diuretice sau în hiperaldosteronism primar.

Manifestările clinice ale deficitului de magneziu sunt nespecifice. Alături de manifestările de ordin general cum ar fi anorexie, greață, vărsături, amețeli, apatie, depresie, bolnavii prezintă simptome neuro-musculare constând din slăbiciune şi crampe musculare, parestezii, uneori chiar şi stări convulsive. Pot apărea hipertensiunea arterială, tahicardia şi aritmii ventriculare. Manifestări grave, sunt, dezorientarea şi confuzia.

Hipermagneziemii pot apare în insuficiențe renale (când nu se poate excreta cantitatea de magneziu provenită din alimente sau medicamente), boala Cushing, stări de deshidratare.

Determinări de laborator

- Metoda Velluz utilizează ca reactiv ortochinoleina care se bromurează. Excesul de brom se determină iodometric.
- Ionii de Mg^{2+} dau, în mediu alcalin, un lac roşu cu colorantul „galben de Titan" (galben de tiazol).
- Flamfotometric.

- Fotometric–magneziul posedă un pic de emisie la 285 nm.
- *Fotometria de absorbție atomică* –care poate fi considerată ca metodă de referință.

Microelementele (Oligoelementele)

Microelementele se găsesc în organismul uman în mod constant, însă în cantități foarte mici.

Acumularea lor se produce în organismul omului în mod selectiv de către anumite țesuturi şi organe. Astfel, glandele genitale şi pancreasul acumulează zincul. Cobaltul este găsit în concentrații mai mari în ficat, rinichi, hipofiză, nichelul în păr, unghii, pancreas, molibdenul în substanța albă a creierului.

Influența microelementelor asupra metabolismului este legată strâns de acțiunea lor asupra activității enzimelor.

Un alt aspect important îl prezintă raportul dintre oligoelemente. Dereglarea corelației dintre microelemente şi dintre acestea şi macroelemente poate duce la o serie de reacții antagonice în organism. De exemplu fluorul este un antagonist al iodului deoarece îl poate înlocui conducând la perturbări în sinteza tiroxinei iar excesul de fluor conduce la scăderea conținutului de iod al organismului.

Redăm în continuare cele mai importante oligoelemente prezente în sânge.

Fierul

Organismul unui adult conține 4 - 5 g de fier, din care cea mai mare parte se găseşte sub formă de combinații cu porfirinele, respectiv cu protoporfirina 9, alcătuind compusul denumit hem. Moleculele de hem se combină cu diferite proteine, alcătuind hemoproteinele (hemoglobină,mioglobină şi enzime heminice), care reprezintă forma funcțional activă a fierului. Aproximativ 25% din fierul organismului reprezintă forma de stocare, legată de proteine, în feritină şi hemosiderină, iar mai puțin de 1% se găseşte în plasmă şi lichidul interstițial, legat de o proteină transportoare, numită transferină (siderofilină).

Necesarul de fier

În mod normal fierul eliberat zilnic prin distrugerea hematiilor în sistemul reticulo-endotelial este reutilizat pentru formarea de hemoglobină. Astfel nevoile organismului vor trebui să compenseze numai pierderile.

În mod fiziologic:

- la un bărbat adult pierderile nu depăşesc 1 mg/zi. Eliminările pe cale urinară sunt minime, 0,1 mg/zi, deoarece fierul este fixat pe transferină şi nu trece prin filtru glomerular. Restul eliminărilor au loc prin excreție biliară, descuamarea pielii, descuamarea celulelor intestinale;
- pierderi episodice prin hemoragii, în timpul menstruației ,a sarcinii, a alăptării.

Necesarul de fier al organismului este:

- 1 mg/zi pentru barbați;
- 2 mg/zi pentru femei între 18 - 55 ani;
- în perioada sarcinii necesarul este de 3 mg/zi în primele luni şi de 10 mg/zi în ultimele luni de sarcină;
- la copii necesarul de fier este crescut în special în primii 2 ani şi în perioada adolescenței;

Ținând cont de absorbția parțială a fierului alimentar şi de necesitățile sporite din anumite perioade, se recomandă ca aportul de fier alimentar să fie de câteva ori mai mare decât necesitățile calculate în funcție de pierderi. Astfel pentru bărbatul adult şi femeia la menopauză sunt suficiente 10 mg fier alimentar. Pentru adolescenți, femeia în perioada ciclului rația zilnică va fi aproximativ de 18 mg fier alimentar.

Alimentele bogate în fier sunt: spanacul, urzicile, lintea, fructele uscate, ouăle, carnea, viscerele, vinul.

Absorbția fierului

Într-o alimentație normală aportul zilnic de fier este de 12-15 mg. Din această cantitate se absorb doar 1 mg/zi, care de altfel este suficientă pentru compensarea pierderilor fiziologice.

Absorbția fierului are loc în duoden şi în porțiunea superioară a jejunului numai sub formă de fier ionizat. Fierul din alimente se găseşte mai ales sub formă ferică (Fe^{3+}) iar absorbția se face sub formă feroasă (Fe^{2+}). Toți factorii care permit disocierea ionilor de fier din complexele organice sau care acționează ca reducători, trasformând fierul trivalent în fier bivalent, vor favoriza deci absorbția. În acest sens, intervine HCl şi vitamina C. Pe de altă parte, alcalinitatea sucului duodenal, cauzată în special de un flux plasmatic crescut, precum şi de alimente bogate în fosfați, aşa cum sunt cerealele şi produsele lactate, reduc absorbția fierului. S-a descris în sucul pancreatic şi un principiu inhibitor pentru absorbția Fe.

Variații fiziologice ale sideremiei

La majoritatea bărbaților normali sideremia oscilează între 90 - 160 μg/100 mL, la femei fiind ceva mai scăzute, 80 - 130 μg/100 mL. Din cauza icterului fiziologic al nou-născutului, sideremia este uşor crescută

în primele 5 - 8 zile de la naştere, scăzând apoi sub valorile medii ale adultului.

Alături de aceste variaţii legate de vârstă şi sex, sideremia prezintă oscilaţii şi în cursul zilei, fiind mai ridicată dimineaţa decât seara. De asemenea, variaţii se mai întâlnesc în perioada de sarcină, în primele săptămâni sideremia creşte uşor, dar în ultimele luni de sarcină scade semnificativ.

Variaţii patologice ale sideremiei

Sideremia scade în anemiile feriprive şi în general în carenţa de fier. Scăderea fierului seric se mai constată şi în caz de activare bruscă a eritropoezei, când fierul din plasmă este rapid încorporat în hemoglobină. O astfel de situaţie survine în hemoragii sau în cursul tratamentului cu vitamina B_{12} a unei anemii de tip Biermer.

Valori scăzute ale fierului seric, şi eventual anemie, se pot întâlni şi în stări infecţioase, mai ales cronice, în nefropatii cronice, poliartrita reumatoidă şi în procese neoplazice, malnutriţie, malabsorbţie, diaree cronică, paraziţi, gastrită atrofică.

Creşterea sideremiei survine în toate situaţiile în care degradarea eritrocitelor şi eliberarea de fier din hemoglobină decurge mai rapid decât procesul de captare a fierului din măduva osoasă, fenomen caracteristic *anemiilor hemolitice.*

Creşterea fierului seric în *hepatitele acute* şi în puseele evolutive ale unor hepatite cronice şi ciroze se datoresc unei eliberări de feritină din celulele hepatice lezate şi are o semnificaţie analoagă creşterii transaminazelor.

Creşterea sideremiei, de regulă, se însoţeşte de o acumulare de fier în depozite. Valori deosebit de crescute ale sideremiei, asociate cu o scădere marcată a transferinei se constată în *hemocromatoze.* Avându-se în vedere că, cel puţin la bărbat, eliminările de fier sunt foarte reduse, orice creştere a aportului de fier poate duce la un bilanţ pozitiv şi la o supraîncărcare. Când excesul de fier depăşeşte capacitatea organismului de a forma apoferitină, acumulările de fier decurg cu formarea unui procent crescut de hemosiderină. Atâta timp cât supraîncărcarea cu fier este limitată la celulele sistemului reticulo-endotelial, nu apar tulburări funcţionale şi nici leziuni morfologice ale parenchimului. În aceste cazuri se vorbeşte de *hemosideroză.* Dacă depunerile de fier au loc şi în celulele parenchimatoase se dezvoltă procese patologice care alcătuiesc **hemocromatoza**.

Hemocromatozele secundare sunt datorate unor factori etiologici cunoscuţi, cum sunt:

- hemocromatoze secundare bolilor de ficat, în special în ciroze hepatice de origine etilică la care se poate constata o supraîncărcare cu

fier (vinurile conțin cantități mari de fier iar alcoolul favorizează absorbția acestuia);

- transfuzii multiple;
- hemocromatoze nutriționale datorate ingerării de cantități crescute de fier pe perioade îndelungate provenind mai ales din vasele folosite pentru prepararea alimentelor şi băuturilor.

Hemocromatoza primară este o maladie ereditară transmisă recesiv şi constă dintr-o acumulare excesivă de fier datorată creşterii absorbției intestinale fără legătură cu nevoile organismului. Fierul se acumulează pe tot parcursul vieții în numeroase țesuturi nu numai în sistemul reticulo-endotelial ci şi în parenchimul hepatic, pancreas, hipofiză, glande suprarenale, articulații, piele şi antrenează un tablou clinic şi biologic particular şi anume:

- depozitul de fier din piele antrenează o *melanodermie*, acumulări de melanină cu o pigmentare brună a tegumentelor şi a mucoaselor;
- hepatomegalie cu evoluție spre ciroză;
- depunerea fierului în exces în structura pancreatică duce la apariția unei forme particulare de diabet, cunoscut sub numele de "diabet bronzat";
- perturbări cardiace datorate siderozei miocardice cu tulburări de ritm, dispnee de efort, cu timpul se instalează o insuficiență cardiacă;
- perturbări endocrine datorate încărcării cu fier a lobului anterior al hipofizei. Deficitul gonadic este frecvent antrenând un aspect de infantilism. Manifestări de insuficiență corticosuprarenală şi tiroidiană.
- manifestări osteo-articulare (demineralizări , osteoporoze).

Date de laborator. Testele de explorare a metabolismului fierului au o valoare deosebită. Caracteristic este creşterea sideremiei asociată cu o scădere a capacității totale de fixare a fierului, astfel că procentul de saturare al transferinei depăşeşte 70%, chiar 100%. Probele hepatice sunt alterate, la fel şi metabolismul glucidic.

Determinări de laborator

Explorarea metabolismului fierului s-a dezvoltat mult în ultimii ani prin introducerea tehnicilor de dozare a transferinei şi a feritinei plasmatice care tind să înlocuiască metodele de explorare efectuate până acum. Determinarea directă a transferinei necesită tehnici radioimune. În laboratoarele clinice determinarea transferinei se face indirect, în funcție de combinarea cu fierul. Astfel, se determină **capacitatea totală de legare a Fe** (CTLF) care reprezintă cantitatea maximă de fier care poate să o transporte transferina. Pentru

determinare se adaugă serului de analizat Fe^{3+} în exces, iar excesul de fier nefixat este îndepărtat din soluție cu carbonat de magneziu.

Capacitatea latentă de legare a fierului (CLLF) este cantitatea de transferină care nu este saturată cu Fe şi se calculează după formula:

CLLF = CTLF – fier seric

Raportul dintre sideremie şi CTLF defineşte coeficientul de saturare (CS)

CS = Fier seric/CTLF x 100

Valoare normală CS ~ 30%.

Dozarea fierului seric se face prin:

- Metoda standardizată. Principiul metodei se bazează pe faptul că fenantrolinele (orto- sau beta fenantrolinele) formează cu fierul bivalent un complex colorat. Intensitatea culorii este proporțională cu cantitatea de fier.
- Disulfonatul de bathofenantrolină formează cu ionul feros (Fe^{2+}) un complex colorat în roşu.
- Fotometria de absorbție atomică. Fierul furnizează un spectru de emisie complex, dar în chimia clinică se utilizează banda de absorbție de 248,33 nm.

Cuprul

Din cele 80 - 130 μg cupru conținute în 100 mL plasmă, 96% se găsesc încorporate în ceruloplasmină, o $alfa_2$-globulină. Fiecare moleculă de ceruloplasmină conține 8 atomi de cupru. Spre deosebire de transferină, care este un adevărat transportor de fier, ceruloplasmina nu cedează țesuturilor cuprul, ci îl menține încorporat în structura ei, exercitând o activitate peroxidazică şi favorizând încărcarea fierului pe transferină. Restul cuprului este localizat în ficat, rinichi, hematii şi cu preponderență în sistemul nervos central. S-a reuşit izolarea din aceste țesuturi a unor proteine conținând cupru, cum ar fi *cerebrocupreina* din creier, *hepatocupreina* din ficat şi *eritrocupreina* din hematii.

Cuprul face parte din diverse sisteme enzimatice implicate în reacțiile de oxido-reducere. Principalele enzime care conțin cupru sau necesită cupru pentru a-şi desfăşura activitatea sunt: citocromoxidaza, catalaza, uricaza, tirozinaza, monoaminoxidaza, dopamin β hidroxilaza (catalizează sinteza noradrenalinei) şi superoxid-dismutaza care protejează celulele de efectul toxic al radicalilor liberi de oxigen. Ceruloplasmina exercită efecte peroxidazice şi asupra unor polifenoli şi amine, adrenalină şi serotonină. Transportul plasmatic al cuprului neîncorporat în ceruloplasmină şi fixat în mod labil pe albumina serică.

Surse alimentare bogate în cupru sunt: crustaceele, ficatul de bovine, cereale nedecorticate, nuci, mazăre, prune cacao, alune.

Variații patologice ale cupremiei şi ale ceruloplasminei

Creşteri patologice ale cuprului seric şi ale ceruloplasminei se întâlnesc în infecții acute şi cronice, infarctul miocardic, leucemii acute şi procese neoplazice. Se constată un paralelism între creşterea ceruloplasminei şi creşterea unor proteine de fază acută, cum sunt fibrinogenul, proteina C-reactivă.

Boala Wilson, sau degenerescența hepatolenticulară, se moşteneşte autozomal recesiv. În acest caz hepatocitele sunt incapabile să sintetizeze ceruloplasmina, fiind inhibată şi excreția de cupru. Acumulările intracelulare ale cuprului pot produce necroze, ciroză hepatică.

Scăderi patologice ale cupremiei şi ale ceruloplasminei survin în rarele cazuri de carență în cupru, în sindromul nefrotic, datorită pierderii pe cale urinară, în perturbarea gravă a sintezelor proteice.

Carența de cupru mai poate să apară în unele boli ereditare cum este de exemplu boala Menkes.

Boala Menkes se caracterizează printr-o malabsorbție ereditară a cuprului, legată de cromozomul X, în care caz apar leziuni vasculare, o anemie pronunțată, copiii mor înainte de vârsta de 3 ani din cauza unor accidente vasculare cerebrale.

Determinări de laborator

Principiul metodei se bazează pe complexarea cuprului cu dietilditiocarbamatul de sodiu obținând o colorație verde, colorimetrabilă.

Zincul

Zincul din ser se află în concentrație de 120 - 214 μmoli/L (0,80 - 1,40 mg/L). Zincul plasmatic este legat de alfa$_2$-macroglobulină ca şi unele enzime plasmatice (fosfataza alcalină, carbonicanhidraza, uricaza, lactatdehidrogenaza).

Zincul are rol în diviziunea celulară şi în creştere. Este important în vindecarea rănilor, care necesită formarea de celule noi.

Este de asemenea esențial în funcționarea sistemului reproducător masculin. Se pare că reglează metabolismul testosteronului în prostată.

Alimente bogate în zinc: stridiile (cu rol afrodiziac masculin), carnea de miel, porc, ficat, ouă, mazăre, grâu încolțit, semințe de dovleac.

Variațiile patologice sunt mai puțin cunoscute. Se produc **scăderi** în: sarcină, boli infecțioase cronice (TBC), pierderi renale (sindrom nefrotic), în inflamații, boala Bonbolt care este o boală ereditară transmisă autozomal recesiv, cu scăderea marcată a reabsorbției

intestinale a zincului. **Creşteri** apar în reumatismul acut şi stările de hemoliză.

Dozarea zincului se face prin spectrofotometria de absorbție atomică, metodele chimice nu dau rezultate reproductibile.

Nichelul

Nichelul se găseşte în plasmă în cantitate de 0,002 - 0,023 μmoli/L (1,2 - 4,6 μg/L) legat de albumine şi alfa$_2$-macroglobuline. Variațiile patologice sunt importante în special prin creşterea valorii nichelului plasmatic în infarctul de miocard acut. Se cunosc scăderi în ciroza hepatică şi uremie.

Determinarea nichelului seric se face prin spectrofotometrie de absorbție atomică.

Cobaltul

În ser se găseşte o cantitate de 0,02 - 0,60 μmoli (1,2 - 3,6 μg/L). Cobaltul se găseşte legat ca ion în vitamina B_{12}, are rol de activator sau inhibitor al multor enzime.

Recent s-a constatat că există o legătură între carența de cobalt şi sclerozele coronariene.

Cobaltul în cantități crescute prezintă acțiune cardiotoxică.

Se *dozează* prin spectrofotometrie de absorbție atomică.

Manganul

Întră în constituția multor enzime şi este un factor necesar biosintezei colagenului, a utilizării vitaminei C, a biotinei şi a thiaminei (B_1). El joacă un rol important în metabolismul lipidic în producerea de acizi graşi şi colesterol. Este important şi pentru buna funcționare a sistemului nervos şi în producerea hormonilor sexuali.

Manganul este un antioxidant şi poate avea rol important în prevenirea cancerului şi a maladiilor cardiace.

Serul normal conține 15 mmol/L mangan. Ionii de mangan bivalenți se leagă de albumine iar cei sub formă trivalentă de două β-1-globuline cu greutăți moleculare diferite, una având 70 000 daltoni şi alta 200 000 - 250 000 daltoni.

Surse alimentare de mangan sunt: nucile, cerealele nedecorticate, frunzele vegetalelor verzi, mazărea, sfecla şi gălbenuşul de ou.

Stări carențiale de mangan se întâlnesc rar, manifestate prin tulburări cutanate.

Seleniul

Deşi organismul are nevoie de cantități extrem de mici din acest element, el deține un rol important. Seleniul este un antioxidant puternic în organism, alături de glutation, considerat ca un detoxifiant al radicalilor

liberi cât şi a unor metale ca mercur, cadmiu, arsen. În ultimii ani s-a pus în evidență rolul lui protector împotriva cancerului. În anul 1990 în SUA a fost recunoscută importanța sa stabilindu-se o doză de 50 - 100 mcg zilnic. Earl Mindell consideră, în urma cercetărilor efectuate, că este necesară o doză de 200 mcg pe zi pentru a proteja organismul împotriva cancerului.

Acelaşi autor constată că țările cu o concentrație crescută de seleniu în sol prezintă o rată scăzută a cancerului. S-a constatat de asemenea că şoarecii tratați cu o dietă bogată în acizi graşi nesaturați dar cu o cantitate scăzută de seleniu au înregistrat tumori pe când cei tratați cu acizi graşi nesaturați şi cu seleniu nu au format tumori.

Seleniul, probabil tot datorită propriităților sale antioxidante, apare ca protector împotriva maladiilor circulatorii şi cardiace.

Cromul

Prezintă un rol important alături de insulină în metabolismul glucidic. El este important la diabetici din două puncte de vedere. În primul rând se pare că stimulează celulele beta ale pancreasului în producerea de cantități mai mari de insulină şi în al doilea rând creşte eficiența insulinei menținând concentrația normală a glicemiei.

Alimente bogate în crom: şunca, crustaceele, carnea de curcan, conopida, sucul de grepfrut, piperul negru.

Anionii

Ca şi cationii, prezența lor asigură menținerea unor constante biologice ale organismului.

Clorul

Clorul este principalul anion al lichidelor extracelulare. Se presupune că ionul Cl^- ar urma sodiul în deplasările sale contribuind la realizarea presiunii osmotice, a izotoniei extracelulare. Intervine, de asemenea, în reglarea echilibrului acido-bazic prin participarea la schimburile ionice tubulare, unde contribuie la reținerea ionilor HCO_3^-.

În plasmă concentrația Cl^- este în medie 103 mEq/L iar în lichidele interstițiale 114 mEq/L.

Între clorul globular şi cel plasmatic există un raport constant = 0,52.

În cantitate crescută, Cl^- mai există în celulele principale ale glandelor gastrice, în celulele glandelor sudoripare şi în fibrele colagene ale țesutului conjunctiv. El se găseşte şi în lichidele transcelulare şi în cele de edem (125 mEq/L).

Aportul Cl^- se face prin alimente care variază între 120 - 260 mEq/zi, din care 1/3 sunt aduse prin NaCl ingerată.

Absorbția Cl^- se face aproape în totalitate în ileon.

Eliminările Cl^- se fac aproape integral prin rinichi; numai 1 - 2% prin fecale. Cantitățile eliminate variază în raport cu necesitățile impuse de menținerea unui bilanț echilibrat al Cl^-.

Patologia clorului în organism

Variațiile concentrației Cl^- sunt un rezultat al dezechilibrului între aport şi eliminare şi este independent de cel al Na^+.

Hipocloremiile (sub 80 mEq/L) însoțesc variate tulburări ale echilibrului acido-bazic şi electrolitic şi sunt determinate de:

- depleții clorate (cel mai adesea pierderi de suc gastric: diaree, vărsături);
- administrări îndelungate de diuretice de tipul furosemidului;
- insuficiențe renale cronice şi acute, alcalozele metabolice prin administrare excesivă de carbonat acid şi acidozele gazoase.

Hipocloremiile nu produc manifestări clinice evidente. Ele cresc absorbția tubulară de Na^+ ca urmare a scăderii cantității de Cl^- filtrat.

Regimul hipoclorurat nu duce la hipocloremie, datorită homeostaziei organismului.

Hipercloremiile (concentrația Cl^- plasmatic peste 110 mEq/L) însoțesc tulburările echilibrului acido-bazic şi în special acidozele metabolice.

Hipercloremiile sunt consecința:

- aportului crescut de cloruri când rinichiul este deficient;
- cel mai frecvent se întâlnesc în deshidratările şi hiperhidratările hipertone şi se însoțesc de hipernatremie;
- afecțiuni care reduc eliminările de Cl- (nefropatii interstițiale, acidoză tubulară renală, intoxicații cu acetazolamidă).

Creşterea raportului Cl^- globular/Cl^- plasmatic se întâlneşte în nefrite cronice cu azotemie crescută.

Determinări în laborator

Determinările se pot efectua pe sânge total, pe plasmă sau eritrocite.

Pentru o corectă determinare, la recoltarea probelor trebuie să se țină cont de o serie de factori:

- sângele se recoltează prin puncție venoasă, fără stază, direct în eprubeta de recoltare în care s-a pus în prealabil anticoagulant;
- în procesul de centrifugare pot apare distrugeri mecanice ale globulelor roşii şi clorul eritrocitar trece în plasmă dând erori la analize. Pentru a evita aceste erori, suprafața de contact între eritrocite şi plasmă trebuie să fie cât mai mică, de aceea se utilizează eprubete cu

diametrul mic. De asemenea centrifugarea trebuie efectuată la 4 000 tur/min timp de 30 minute pentru a se realiza o tasare cât mai optimă a eritrocitelor.

Dozarea clorului în laboratoarele clinice se efectuează prin metode chimice şi fizico –chimice.

Metodele chimice

- *metoda Volhard.* Clorul este precipitat cu $AgNO_3$, iar excesul este titrat cu sulfocianură de amoniu în prezența unui indicator.
- *metoda standard.* Ionii de clor se titrează cu nitrat mercuric în mediu acid, formând clorură mercurică, nedisociată. Se foloseşte ca indicator difenilcarbazona, care formează un compus colorat violet cu ionii Hg^{2+} în exces. Nu este necesară deproteinizarea, cu excepția serurilor intens icterice.
- *metoda cu cloranilat de mercur.* Ionii Cl^- pun în libertate din cloranilatul mercuric o cantitate echivalentă de acid cloranilic care poate fi determinat fotometric.

Metodele fizico-chimice

Tehnica electrometrică cu electrozi selectivi utilizează un electrod constituit dintr-o membrană compactă de clorură de argint.

Fosforul

Provenit din disocierea fosfaților minerali şi alcalinoteroşi se găseşte în organism sub formă ionică (HPO_4^{2-}). El este prezent în organismul adult în cantitate de 600 - 900 g, aproape în totalitate sub formă de săruri ale acidului ortofosforic. În proporție de 80 - 90%, fosforul este depus în oase împreună cu calciul, restul este repartizat în muşchi, diverse țesuturi şi lichidele extracelulare. Spre deosebire de calciu, fosforul se găseşte în organism sub forma unor compuşi organici. El se găseşte combinat cu proteinele (fosfoproteide, nucleoproteine), cu lipidele sub formă de fosfolipide sau sub formă acidosolubilă, cum sunt: esterii glucidici, acid fosfogliceric, nucleotide, creatin-fosfat, fosfat anorganic etc.

Fosforul intervine în diverse procese metabolice de importanță majoră dintre care amintim:

- mineralizarea oaselor alături de calciu;
- echilibrul acido-bazic (sistemul fosfaților este unul din principalele sisteme tampon);
- sinteza principalilor compuşi macroergici celulari (ATP; CF etc.) şi a unor intermediari ai metabolismului glucidic şi lipidic;
- sinteza acizilor nucleici şi a unor coenzime de importanță biologică fundamentală (NADP, FAD, piridoxalfosfat, tiaminfosfat etc.).

Fosfatemia este reprezentată de diferiți produşi fosforați prezenți atât în plasmă cât şi în eritrocite.

Concentraţia fosfaţilor variază la adult între 3 şi 4,5 mg/100 mL iar la copii între 4 - 6 mg/100 mL sânge. În plasmă fosforul este prezent în special sub formă de fosfaţi di- şi monosodici, aproape complet ionizaţi la pH-ul plasmatic, dar şi sub forma unor combinaţii complexe, printre care fosfolipidele şi esterii fosforici. În eritrocite el este prezent în special sub formă de combinaţii organice (esteri fosforici, ATP, acizi nucleici etc) şi în concentraţii de cinci ori superioare celor plasmatice.

Absorbţia fosforului are loc rapid şi eficient în mediul alcalin din segmentele distale ale intestinului subţire.

Aportul alimentar zilnic este de circa 800 - 900 mg fosfaţi din care se absorb aproximativ 70%. Alimente bogate în fosfor sunt: curca, peştele, ouăle, nucile, mazărea, fasolea, boabele de cereale, morcovii.

Compoziţia raţiei alimentare activează sau inhibă absorbţia intestinală de săruri fosfocalcice. Astfel:

- Cantităţile mari de lipide reduc absorbţia atât a calciului cât şi a fosforului. În steatoree există o corelaţie directă între eliminările de acizi graşi, calciu şi fosfor.
- Raportul calciu-fosfor din conţinutul intestinal a fost considerat un factor important pentru absorbţia sărurilor fosfocalcice, deoarece excesul unuia dintre constituenţi precipitând fosfatul tricalcic insolubil, diminuă absorbţia. Totuşi, întrucât calciul se absoarbe în special în segmentele intestinale superioare, iar fosforul în cele inferioare, numai în condiţiile unei maldigestii sau malabsorbţii şi mai ales în carenţele de vitamină D, absorbţia defectuoasă a calciului ar putea interfera absorbţia fosfaţilor.

Eliminarea fosforului are loc în proporţie de 60 - 70% prin urină şi restul prin materiile fecale. Eliminările urinare de fosfor se fac în special sub formă de fosfaţi mono- şi disodic în raport 1/8 - 1/10, şi în cantităţi mult mai mici sub formă de săruri anorganice de calciu şi magneziu.

Variaţii patologice ale fosfatemiei

Hiperfosfatemiile pot fi produse de:

hipoparatiroidism prin intensificarea reabsorbţiei tubulare a fosfaţilor;

- acromegalia caracterizată prin fosfatemie crescută, probabil din cauza STH în exces, care inhibând descărcările de parathormon, creşte absorbţia tubulară a fosfaţilor;
- diabetul zaharat grav evoluează cu hiperfosfatemie din cauza diminuării consumului de fosfaţi, secundar scăderii ratei de oxidare tisulară a glucozei:
- hepatită fulminantă;
- acidoze metabolice şi respiratorii;

- insuficiențele renale acute şi cronice se însoțesc obişnuit de hiperfosfatemii, care uneori pot ajunge la 12 mg%;
- intoxicațiile cu vitamină D şi fracturile multiple în perioada imediat posttraumatică produc hiperfosfatemii prin remanierile osoase pe care le determină.

Hipofosfatemiile sunt de obicei asociate cu variații ale calcemiei.

- Hiperparatiroidismul determină hipofosfatemie prin creşterea eliminării urinare de fosfați;
- Rahitismul este însoțit de hipofosfatemie;
- Tubulopatiile cronice datorită unui defect în reabsorbția tubulară a fosfaților dar şi a acidozei.
- Utilizarea excesivă a hidroxizilor de aluminiu şi magneziu (antiacide) în tratamentul ulcerelor gastroduodenale provoacă hipofosfatemie şi hiperfosfaturie, creşterea absorbției intestinale a calciului cu hipercalcemie.
- Anomalii electrolitice: hipomagnezemia, alcaloza metabolică, hipocalcemia.
- deficit de vitamina D.
- alcoolism.
- sindrom Fanconi

Manifestări clinice. Hipofosfatemia acută severă se manifestă prin anemie hemolitică acută cu creşterea fragilității eritrocitare, scăderea rezistetei la infecții. Hipofosfatemia cronică se manifestă prin anorexie, dureri musculare şi osoase şi fracturi.

Determinări de laborator

Ionii de fosfor formează cu ionii molibdat în mediu acid cantități proporționale de complex fosfomolibdenic. Concentrația complexului format se determină prin măsurarea absorbanței sale la 340 nm.

Sulful

Sulful se găseşte în plasmă sub mai multe forme, care însumate alcătuiesc sulful total, corespunzător unei concentrații de 120 - 170 mg/100 mL. Partea majoră a acestuia este reprezentată de acizii aminați, din proteinele sanguine. Sulful neproteic care are o concentrație între 5 - 9 mg/100 mL cuprinde două fracțiuni: sulf neutru (acizii aminați sulfurați şi derivații cu grupe tiol) şi sulf oxidat (sulfatul, esterii sulfurici).

Se cunosc variații ale sulfului în sensul creşterii în nefrita cronică, boli pulmonare (pneumonie, pleurezie).

Ionul hidrogen-carbonat (bicarbonat)

Se găseşte sub formă de hidrogen-carbonați alcalini, constituind ceea ce se numeşte rezerva alcalină, deoarece este principala substanță

bazică care poate neutraliza excesul de acizi ce rezultă din procesele metabolice.

Ionul carbonat acid intervine în cel mai important sistem tampon, $NaHCO_3/H_2CO_3$, care determină direct valoarea pH-ului sanguin. Celelalte sisteme tampon existente în sânge acționează prin intermediul acestuia. Ambele sale componente își au originea în CO_2 rezultat din catabolismul celular.

Valorile normale exprimate în CO_2, la adult sunt de 60 vol CO_2/100 mL plasmă, iar la copii 46 - 63 vol CO_2/100 mL plasmă.

În diferite maladii pot surveni perturbări ale echilibrului acido-bazic, fie prin modificări ale pH-ului sanguin, fie prin modificarea capacității de tamponare a sângelui. O creştere a raportului $NaHCO_3/H_2CO_3$ duce la starea numită *alcaloză*, iar o scădere la *acidoză* (vezi tulburările echilibrului acido-bazic).

În coma diabetică datorită apariției corpilor cetonici se va institui o acidoză. În caz de diaree, vomismente prelungite, anomalii respiratorii, pierderi de Cl^-, se instituie alcaloza.

Determinări de laborator

Se pot face fie prin determinarea rezervei alcaline sau determinarea cantității de carbonat acid şi CO_2 din plasmă.

Metoda rapidă de determinare a rezervei alcaline se bazează pe descompunerea carbonaților acizi din ser cu ajutorul HNO_3 şi titrarea cu o soluție de hidroxid de sodiu în prezență de indicator.

Tehnica enzimatică se bazează pe carboxilarea enzimatică a fosfoenol piruvatului, conform reacțiilor:

HCO_3 + fosfoenolpiruvat $\rightarrow$ 1 $\rightarrow$ oxalacetat + fosfat

Oxalacetat + NADH + H^+ $\rightarrow$ 2 $\rightarrow$ malat + NAD^+

1 = fosfoenolpiruvat-carbokinaza

2 = malatdehidrogenaza.

Scăderea absorbanței la 340 nm este proporțională cu cantitatea de H_2CO3. Această metodă este adaptată la numeroase aparate automate.

Tehnica electrometrică utilizează un electrod specific care răspunde selectiv la ionii HCO_3^{--}.

Iodul

Este un element esențial pentru biosinteza unor hormoni tiroidieni.

Iodul are o proveniență exogenă, din alimentație, sau pe cale medicamentoasă.

Iodul se găseşte predominant sub formă de iod proteic şi în majoritate în structura hormonilor tiroidieni. În cantități mici există şi liber de la etapa ingerării până ajunge în glanda tiroidă.

Nevoia zilnică de iod este de 100 - 200 micrograme din care organismul reține 10 micrograme, restul se elimină prin fecale şi în mică măsură prin urină.

Valori crescute ale iodului sanguin se întâlnesc în hipertiroidii.

Valori scăzute în: hipotiroidii, boala lui Basedow.

Determinarea iodului în laborator se poate face gravimetric, după mineralizarea serului.

Componentele organice din sânge

Componentele organice din sânge pot fi împărțite în două mari categorii: componente neazotate şi componente azotate.

Dintre componentele neazotate fac parte glucidele şi lipidele serice.

Substanțe organice neazotate

Glucidele serice

Dintre glucidele serice cea mai investigată este glucoza. Ea este forma sub care circulă glucidele serice în organism.

Á jeun concentrația glucozei sanguine variază între 70 - 105 mg/100 mL (prin metoda cu o-toluidină 65 - 110 mg/100 mL ser), iar în cazul unui post prelungit ea poate scădea la 60 - 70 mg/100 mL. După o alimentație bogată în hidrați de carbon glicemia poate creşte până la 120 - 130 mg/100 mL.

Sursele glucozei sanguine sunt reprezentate de:

- aport exogen alimentar 200-300 g/zi,
- glicogenoliza glicogenului hepatic,
- gluconeogeneza

prin:

- transformarea la nivelul ficatului a celorlalte oze, inclusiv cele de proveniență alimentară, în glucoză.
- formarea glucozei din surse neglucidice.

În principiu celulele animale găsesc suficientă glucoză datorită alimentației nefiind nevoie să o sintetizeze. Dar în anumite circumstanțe, când glucidele din regimul alimentar nu sunt suficiente, la nivelul ficatului are loc sinteza glucidelor din acizii aminați proveniți din proteine, şi din

glicerol provenit din grăsimi. Alături de aceşti compuşi organismul mai poate utiliza acidul lactic, rezultat prin glicoliză în musculatura scheletică şi eritrocite şi transportat prin sânge la ficat şi rinichi unde este transformat în glucoză. Astfel se asigură nivelul glicemiei necesar pentru activitatea sistemului nervos şi pentru eritrocite, care nu pot utiliza energia furnizată de acizii graşi.

Ficatul asigură 90% din gluconeogeneză, iar rinichiul cu 10%. Prin gluconeogeneză se pot furniza până la 300 g glucoză pe zi.

Reglarea hormonală a glicemiei. Menținerea glicemiei între anumite limite este unul din cele mai fin reglate mecanisme homeostatice şi la care participă ficatul, țesuturile extrahepatice şi o serie de glande endocrine.

Ficatul este permeabil pentru glucoza sanguină, în timp ce țesuturile extrahepatice sunt relativ impermeabile în lipsa insulinei. Ficatul are un rol nu numai în captarea şi metabolizarea glucozei, dar şi în stocarea şi eliberarea acesteia.

Pătrunderea glucozei în celule şi eliberarea acesteia din depozitele de glicogen hepatic şi deci nivelul glicemiei, sunt supuse unor influențe hormonale. Singurul hormon cu efecte hipoglicemiante este insulina. În schimb efecte hiperglicemiante se obțin cu hormonul de creştere, ACTH şi cortizon, adrenalină şi glucagon.

Secreția de insulină de către celulele beta ale insulelor Langerhans din pancreas este stimulată de: nivelul glicemiei (secreția de insulină creşte atunci când nivelul glicemiei creşte), unii acizi aminați şi în special leucina şi arginina, agenții beta-adrenergici.

Intervenția sistemului nervos în reglarea glicemiei este evidentă, cunoscându-se intervenția mecanismelor nervoase în toate reacțiile de stres şi în controlul glandelor cu secreție internă. Hiperglicemiile din cursul emoțiilor puternice sunt bine cunoscute.

Fiziopatologia metabolismului glucidic

Hipoglicemiile

Activitatea sistemului nervos depinde în mare măsură de glucoza din sânge, întrucât celulele nervoase sunt lipsite de rezerva de glicogen şi nu utilizează alți principii alimentari decât în condiții excepționale. Din acest motiv hipoglicemia şi în special cea instalată brusc, va produce semne de perturbare a activității nervoase asemănătoare în parte cu manifestările de hipoxie.

Hipoglicemia este definită ca o scădere a nivelului glucozei sanguine sub 60 mg/100 mL.

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ŞI FARMACIE
BIBLIOTECA nr. 2 CLINIC
Nr. de inventar 10.196
Cota 39.766
CRAIOVA
11/2/2010

Cauzele hipoglicemiei

În funcție de etiologia lor, hipoglicemiile pot fi împărțite în următoarele grupe:

- hipoglicemie produsă de insulină sau de preparete medicamentoase;
- hipoglicemia „á jeun" prin deficit antiinsular;
- hipoglicemie reactivă;
- o situație particulară este reprezentată de insulinoame (tumori cu celule beta);
- glicogenoze.
- hipoglicemii se mai pot întâlni în galactozemii, hipoglicemia familială, tulburări de reabsorbție tubulară (fără hiperinsulinism) insuficiență suprarenală şi în unele procese neoplazice (hepatoame, tumori ale corticalei suprarenale, teratoame).
- după ingestie crescută de alcool. Hipoglicemia se poate declanşa după 2-10 ore de la ingestia unei mari cantități de alcool. Ea se întâlneşte în special la tinerii care consumă pentru prima oară alcool. Hipoglicemia este cauzată probabil de blocarea gluconeogenezei în timpul metabolismului alcoolului.

Hipoglicemia produsă de insulină sau medicamente reprezintă cea mai frecventă formă întâlnită în clinică şi este în marea majoritate a cazurilor o consecință a unui supradozaj de insulină la un diabetic. Antidiabeticele orale de tipul tolbutamidei pot provoca hipoglicemii, în special la vârstnici.

Hipoglicemia „a jeun" prin deficit antiinsular este condiționată de o insuficiență a mecanismelor de mobilizare a glucozei din rezerve sau o deficiență a proceselor de gliconeogeneză. Aceste deficiențe ajung la manifestări de hipoglicemie doar când hidrații de carbon lipsesc din alimentație.

Hipoglicemia reactivă apare ca răspuns la ingestia unor substanțe, iar atacurile de hipoglicemie pot fi puse în legătură cu alimentația sau chiar cu anumite alimente.

Hipoglicemia reactivă este frecventă la subiecții cu rezecție gastrică.

Insulinomul sau adenomul cu celule beta al pancreasului este o tumoră insulino-secretantă. având de regulă un caracter benign.

Glicogenozele. Acest grup de afecțiuni cu caracter familial se caracterizează prin acumularea anormală de glicogen în diverse țesuturi şi sunt cauzate de un deficit genetic al enzimelor cu rol în degradarea glicogenului sau de anomalii ale unor enzime care intervin în sinteza glicogenului (producerea de glicogen normal). În funcție de mecanismul

enzimatic deficitar şi de organul în care acest deficit se manifestă cu predominanță, s-au izolat până în prezent opt tipuri de glicogenoze.

Glicogenozele hepatice, în care există un deficit în procesul de glicogenoliză hepatică, evoluează cu hipoglicemie.

Manifestările clinice ale hipoglicemiei

Hipoglicemiile acute pot fi uşoare, medii sau grave.

Hipoglicemia uşoară se manifestă prin foame dureroasă, amețeală, transpirații reci, tremurături, vertij, tahicardie. Toate aceste manifestări dispar prin simpla ingestie de zahăr.

Hipoglicemia medie prezintă aceleaşi manifestări dar într-o formă mai accentuată. Mai pot apărea şi alte tulburări neuropsihice : crampe, parestezii, cefalee, migrene.

Hipoglicemia gravă – coma hipoglicemică –poate fi precedată de o perioadă scurtă cu manifestări de genul celor descrise mai sus. Coma hipoglicemică poate fi de intensitate variabilă, dar de obicei este profundă, cu abolirea completă a cunoştinței. Bolnavul prezintă tahicardie, hipertensiune. Din punct de vedere neurologic, bolnavul poate prezenta convulsii (mai ales copii), contracturi puternice, uneori paralizii. Ca probă terapeutică sunt soluțiile concentrate de glucoză, după care bolnavul îşi revine rapid, excepție făcând cazurile în care există atingeri neurologice profunde.

Hipoglicemia cronică se poate menține vreme îndelungată şi se datoreşte unei maladii sau unei terapii necorespunzătoare. Aceasta se caracterizează prin manifestări psihice, asemănătoare celor din nevroză, isterie, etilism, tumori cerebrale, demență.

Hipoglicemiile grave repetate sau hipoglicemiile cronice se soldează cu alterări nervoase grave, irecuperabile ("encefalopatii posthipoglicemice").

Date de laborator

- cea mai importantă probă este dozarea glucozei, care este scăzută sub 50 mg%
- testul la *tolbutamid* se execută astfel: se injectează i.v., dimineața pe nemâncate, 1 g tolbutamid. Se recoltează probe de sânge la 0, 5, 15, 30, 60, 90, 120, 180 minute. În mod normal în 15-30 minute glicemia se reduce cu 35% din valoarea bazală. În caz de insulinom, scăderea glicemiei ajunge la 60% din valoarea inițială şi rămâne inferioară şi după 3 ore.
- Determinarea *insulinei plasmatice* se efectuează prin radioimunoanaliză şi se exprimă ca insulină imunoreactivă (RIA). Valori peste 20μU/mL "a jeun", eventual asociate cu glicemii reduse sunt prezente în hiperinsulinism.

Hiperglicemiile

Reprezintă creşteri ale nivelului glucozei sanguine la valori peste 120 mg/100 mL şi sunt de regulă datorate unui deficit absolut sau relativ de insulină.

Hiperglicemii trecătoare pot fi observate în legătură cu stări emoţionale sau în caz de stres chirurgical şi în unele stări de şoc, ca urmare a descărcărilor de catecolamine şi de glucocorticoizi, după administrarea unor medicamente.

Diabetul zaharat

Definiţie

Lucrările diferitelor comisii internaţionale recomandă ca definiţie a diabetului zaharat (DZ) *creşterea cronică anormală a glucozei sanguine* (hiperglicemie).

Etiopatologie

Cauzele diabetului zaharat sunt multiple, cele mai importante fiind : ereditatea şi factorii de mediu.

Factorul *ereditar* nu poate fi contestat. La aproximativ 50% din diabetici poate fi identificată o rudă de sânge cu diabet zaharat.

Factorii de *mediu*:

- *obezitatea* – ocupă locul cel mai important. Indivizii peste 50 de ani rar ajung la diabet dacă nu sunt obezi.
- *infecţii virale* – oreion, rubeolă, infecţii cu citomegalovirus.
- bolile pancreasului, hemacromatoză ("diabet bronzat"), pancreatectomia –dar nu prezintă de regulă o cauză determinantă.

Clasificarea diabetului zaharat

Această clasificare a fost propusă de Comitetul de experţi OMS (Madrid 1985) şi folosită ulterior pe plan mondial.

1. *Clasificare clinică*

a. *diabet zaharat*

diabet insulinodependent – tip I
diabet neinsulinodependent – tip II
- fără obezitate
- cu obezitate

diabet secundar asociat cu:
- boli pancreatice
- maladii endocrine
- sindroame genetice
- abnormalităţi ale receptorului insulinic
- tratamente cu chimioterapice
- diverse

b. *scăderea toleranței la glucoză*
- fără obezitate
- cu obezitate
- asociată cu unele condiții şi sindroame

c. *diabet zaharat gestațional*

2. *Clasificare statistică* – subiecții cu toleranță la glucoză normală, dar cu risc important de a deveni diabetici
- anomalii anterioare a toleranței la glucoză
- anomalii potențiale a toleranței la glucoză, persoane cu risc crescut (rude de sânge ale diabeticilor cunoscuți).

Diabetul insulinodependent – tip I – se caracterizează printr-un debut în general rapid şi brutal în majoritatea cazurilor la subiecții tineri (diabet juvenil). Complicațiile cronice retiniene, renale, nervoase, survin în următorii ani.

Diabetul neinsulinodependent – tip II – reprezintă 80-85% din cazurile de diabet. El este adesea asociat cu obezitatea. Debutul său este progresiv. Hiperglicemia este mult timp moderată. Complicațiile cronice sunt în general mai puțin severe. Mai frecvente sunt complicațiile cardiovasculare.

Consecințe funcționale

Hiperglicemia este puțin nocivă prin ea însâşi. Doar în cazurile când se ajunge la valori extrem de crescute, hiperglicemia poate fi o cauză de comă.

Când nivelul glucozei sanguine depăşeşte 170 - 180 mg/100 mL apare *glicozuria*. În prezența unei funcții renale adecvate, glucoza filtrată la nivelul glomerulilor se reabsoarbe la nivelul tubilor renali, printr-un proces activ. Acest proces de reabsorbție este însă limitat, iar capacitatea de reabsorbție tubulară maximă este de aproximativ 350 mg/min. Când nivelul glicemiei creşte peste 170 - 180 mg/100 mL, filtratul glomerular va conține mai multă glucoză decât poate fi reabsorbită, iar excesul se elimină prin urină. Se consideră că în astfel de situații glucoza sanguină a depăşit pragul renal. Dacă însă glicozuria este severă, eliminările masive de glucoză pe cale renală antrenează şi o *poliurie*. La eliminările masive de apă şi electroliți pe cale urinară contribuie şi producția crescută de uree precum şi hipercetonemia. În plus, corpii cetonici, având un caracter acid, atacă rezerva de bicarbonați din sânge, ducând la acidoză *metabolică*. Deperdiția de apă produce senzația de sete şi duce la *polidipsie*, iar acidoza produce o excitare a centrului respirator şi o accentuare a respirației.

Perturbarea sintezei de lipide, exagerarea lipolizei în țesutul adipos asociată procesului de gliconeogeneză sunt în măsură să explice

polifagia. Deşi se consumă alimente în cantitate mare, totuşi se produce o scădere în greutate datorită pierderii de lichide extra şi intracelulare, a lipolizei şi pierderii în masa musculară.

Glucoza nemaiputând satisface nevoile energetice ale organismului, se va apela la proteine prin neoglicogeneză, va creşte catabolismul azotat ducând la creşterea aminoacidemiei. Insuficienţa insulinei va determina lipoliza cu creşterea acizilor graşi şi a glicerolului (care ia calea neoglicogenozei). Cantitatea crescută de acizi graşi va duce la producerea de cantităţi mari de *corpi cetonici* (acid beta-hidroxibutiric, acid acetilacetic şi acetona). Cetonemia normală este redusă, nu depăşeşte 1 mg%, iar în cetoacidoza diabetică pot ajunge la 130 – 200 mg% şi chiar mai mult. Astfel se instalează hipercetonemia şi hipercetonuria ceea ce duce la scăderea rezervei alcaline instalându-se acidoza metabolică. Când pH-ul sanguin scade sub 7,20 se instalează marea respiraţie acidotică (dispnee Kussmaul). Dacă nu se intervine, aceste perturbări se accentuează până la *comă diabetică* în care apar tulburări de cunoştinţă datorită diminuării metabolismului cerebral al glucozei şi tulburărilor hidroelectrolitice.

Complicaţiile diabetului zaharat

Complicaţiile diabetului zaharat sunt frecvente şi determinate de lipsa unui tratament corespunzător şi de durata bolii. Ele pot determina invalidităţi grave (cecitate, uremie, amputaţii) sau moartea.

Complicaţiile diabetului zaharat pot fi:

1. *acute:*
   - cetoza şi cetoacidoza (coma diabetică);
   - coma diabetică hiperosmolară fără cetocetoză;
   - infecţiile
2. *cronice*:
   - angiopatia
   - retinopatia
   - nefropatia
   - neuropatia

Aceste complicaţii pot coexista.

Frecvent la diabetici sunt întâlnite *infecţiile* datorită scăderii puterii de fagocitare a leucocitelor. Ele se pot manifesta ca infecţii cutanate şi mucoase (furunculoză, foliculită, vulvovaginită), infecţii urinare, tuberculoză pulmonară.

Dintre complicaţiile cronice la diabet zaharat, *angiopatia diabetică* se instalează treptat cu mult înainte de a fi identificată. Apariţia şi evoluţia ei este determinată de o serie de factori printre care, în primul

rând hiperglicemia care antrenează un grad de hipoxie relativă a țesuturilor datorită modificărilor hematologice, cum sunt: creşterea hemoglobinei glicozilate, scăderea nivelului de antitrombină III, modificările funcției plachetare, scăderea fibrinolizei, anomalii ale proteinelor plasmatice care duc la creşterea vâscozității sângelui.

Angiopatia interesează vasele sanguine şi se clasifică în:

- microangiopatia diabetică (interesează capilarele)
- macroangiopatia diabetică (interesează arterele mijlocii şi mari)

Microangiopatia este specifică diabetului zaharat şi se caracterizează prin îngroşarea membranei bazale a capilarului, datorită depunerii de glicoproteine. Ea se întâlneşte de obicei la nivelul retinei (retinopatia diabetică) şi a glomerulului (nefropatia diabetică).

Retinopatia diabetică poate fi asimptomatică chiar în stadii avansate, din acest motiv trebuiesc efectuate examene periodice. Modificările morfologice evoluează în mai multe stadii, stadiul IV, cel mai grav se poate manifesta prin hemoragii în vitros, dezlipire de retină şi glaucom neovascular.

Nefropatia diabetică nediagnosticată la timp şi netratată corect poate duce la insuficiență renală cronică. Modificările inițiale sunt reversibile. Aproximativ după 5 ani apare proteinuria. Dacă este asociată cu pielonefrită apare şi leucocituria, hematuria, bacteriuria.

Macroangiopatia diabetică sau arteriopatia diabetică reprezintă unul din factorii de risc ai arterosclerozei. Diabetul zaharat se asociază de multe ori cu obezitatea, hipertensiunea arterială, hiperuricemia, crescând riscul arterosclerozei. Ea se manifestă clinic la diferite segmente ale sistemului arterial, ca de exemplu, prin accident cerebral vascular, cardiopatie ischemică (angină pectorală, infarct miocardic), arteriopatia membrelor inferioare. Arteriopatia arterelor cerebrale şi coronariene prezintă, în general, aspecte comune cu cele ale nediabeticului.

Arteriopatia diabetică a membrelor inferioare este localizată de obicei la arterele gambei şi evoluează în patru stadii:

- stadiul I – oboseală la mers, pulsul la arterele piciorului este absent, senzație de frig.
- stadiul II – claudicație intermitentă.
- stadiul III – durere de repaus.
- stadiul IV – ulcerație şi/sau gangrenă.

Gangrena diabetică este una din complicațiile grave ducând uneori la amputație sau septicemii. Gangrena se poate instala şi la un

bolnav care nu a prezentat anterior suferințe, datorită neuropatiei de la acest nivel.

Neuropatia diabetică este secundară tulburărilor metabolice nutritiționale ale fibrelor nervoase. Ea se manifestă polimorf, afectarea nervilor fiind multiplă. Neuropatia diabetică însoțește întotdeauna angiopatia diabetică, dar nu întotdeauna se manifestă clinic.

Date de laborator

Pentru diagnostic datele de laborator sunt hotărâtoare. Diabetul zaharat cu acidocetoză se caracterizează prin: - glicemie crescută

- rezervă alcalină scazută
- pH-ul sanguin scade de la 7,35 până la 7,10
- cetonemia este proporțională cu severitatea comei.
- creşte ureea sanguină datorită scăderii filtrării glomerulare.
- lipemia este constant crescută.
- colesterolemia este crescută –poate atinge valori de 500-700 mg%, chiar mai mult.
- leucocitoza.

În *urină*: - prezenți corpi cetonici

- glicozurie constant ridicată
- creşte ureea urinară
- cresc eliminările de acid uric, creatinină, fosfat.

Diagnosticul diferențial al diabetului zaharat

Se face față de:

- *diabetul renal* – în care este prezentă glicozuria datorită tulburării reabsorbției glucozei la nivelul tubului contort proximal, dar glicemia şi TTGO (testul de toleranță la glucoză pe cale orală) sunt normale.
- *diabetul insipid*-în care poliuria este semnificativă (10-20 L/zi), densitatea urinei este scăzută (1 001-1 002), glicemia şi TTGO sunt normale, glicozuria absentă.
- lactozuria din ultima perioadă a sarcinii şi din perioada alăptării nu trebuie confundate cu glicozuria (vezi urină); glicozuria şi TTGO sunt normale.
- alte meliturii: fructozuria, pentozuria, galactozuria.
- false glicozurii pot apărea după administrarea unor medicamente: vitamina C, tetraciclina, salol, acid nalidixic, amino-fenazonă.

Se poate afirma deci că suferințele celulare multiple apărute în diabetul grav se datoresc lipsei de utilizare a glucozei, acumulării de produşi de degradare din metabolismul lipidic, acidozei şi tulburărilor hidroelectrolitice.

Determinarea glucozei în sânge

1. Probe statice

Glicemia reprezintă una din constantele fundamentale ale mediului intern iar determinarea sa este modalitatea cea mai frecventă de evaluare globală a metabolismului intermediar al hidraţilor de carbon.

Probele de sânge sunt, de regulă, prelevate din venă, dimineaţa pe nemâncate.

Valorile normale ale glicemiei determinată prin metode care au la bază proprietatea glucozei de a reduce sărurile cuprice, picrice sau ferice într-un mediu alcalin, sunt cuprinse între 70 - 120 mg/100 mL.

Cea mai specifică este **metoda enzimatică** care implică folosirea glucozo-oxidazei care oxidează glucoza la acid gluconic şi eliberează H_2O_2 care în prezenţa unui cromogen şi a peroxidazei va colora soluţia.

Metoda standardizată se bazează pe dozarea glucozei cu orto-toluidină care în prezenţa aldohexozelor formează un complex colorat intens în verde-albastru. Valorile normale obţinute prin această metodă sunt ceva mai mici şi anume între 65 - 110 mg/100 mL.

Valorile glicemiei depind şi de locul de recoltare a sângelui (sângele venos conţine ceva mai puţină glucoză decât cel capilar), vârsta pacientului (mai ridicată la persoane în vârstă), momentul de recoltare (pre- intra- sau postprandial) şi metodele de dozare (cu tehnicile curent utilizate se obţin valori superioare glicemiei reale).

Auto-monitorizarea glicemiei

Pentru supravegherea riguroasă a diabetului zaharat, pacientul poate să-şi dozeze glicemia în ambulator, cu ajutorul *glucometrului portabil*. Principiul determinării se bazează pe reacţia enzimatică cu glucozo-oxidază. Bolnavul recoltează o picătură de sânge capilar, care pusă în contact cu o bandeletă impregnată cu glucozo-oxidază se va colora în 12-45 sec. Intensitatea coloraţiei este citită de aparat şi este direct proporţională cu concentraţia glucozei.

Determinarea glicemiei la 2 h după un prânz glucidic rămâne proba cea mai sigură pentru depistarea în masă, printr-o analiză unică, a bolnavilor de diabet, iar determinarea glicemiei după 48 - 72 h de post, o probă hotărâtoare pentru diagnosticul hipoglicemiilor organice.

Glicozuria. În mod normal urina nu conţine glucoză; cantităţile reduse, de maximum 50 mg/zi, nu influenţează metodele curente de determinare. Glicozuriile sunt consecinţa depăşirii capacităţii maxime de reabsorbţie a glucozei la nivelul tubului renal mai frecvent datorită hiperglicemiei şi pot fi tranzitorii sau permanente.

Glicozuriile repetate, însoţite de o hiperglicemie sunt cauzele unui diabet zaharat.

O glicozurie persistentă în prezenţa unei glicemii normale pledează pentru un *diabet renal*, cauzat de un deficit în procesul de reabsorbţie tubulară a glucozei.

Determinarea hemoglobinei glicozilate (glicohemoglobina - HbA_1).

Noţiunea de Hb-glicozilată (HbA_1) a apărut în 1958 când Allen Schoeder şi Bolog au identificat, prin cromatografie pe coloană de răşină schimbătoare de ioni a unui hemolizat de hematii umane, trei componente eluate înaintea hemoglobinei A. Ei le-au denumit cu simbolurile HbA_{1a}, HbA_{1c},HbA_{1b} şi reprezentau 7% din Hb totală, din care 5% era HbA_{1c}.

În anul 1962 Huissman şi Dozy stabilesc o relaţie între HbA_1 şi diabetul zaharat, demonstrând că aceste hemoglobine au valori de 2-3 ori mai mari la diabetici decât la normali.

În sângele normal al adultului, în funcţie de mobilitatea electroforetică se diferenţiază umătoarele fracţiuni de hemoglobină:

- HbA – ce reprezintă 0,7% fiind formată din hem şi câte o pereche de lanţuri polipeptidice alfa şi beta ($alfa_2$, $beta_2$).
- HbA_2 – 2,5% formată din hem, $alfa_2$ şi $gama_2$.
- HbF –fetală, 0,5% ($alfa_2$ şi $gama_2$).

HbA_1 diferă de HbA prin faptul că la N terminal al valinei este legată o componentă glucidică. Se cunoaşte că **HbA_{1c}** are o moleculă de glucoză pe fiecare lanţ. **HbA_{1a}** prezintă fructozo- 1,6 difosfat în loc de glucoză. Structura **HbA_{1b}** nu este stabilită; probabil că unul dintre lanţurile beta suferă o dezaminare a unei molecule de asparagină sau glutamină, dar e posibil să provină tot din adaosul unei molecule glucidice, încă neidentificată.

Fixarea glucozei pe extremitatea N-terminală a lanţului beta are loc după sinteza HbA.

În momentul în care apare o hiperglicemie, câteva molecule de glucoză se ataşează, prin funcţia lor aldehidică, pe amina N-terminală, formând o legătură de tip aldimină, sau bază Schiff. Apoi are loc o remaniere structurală denumită rearanjare Amadori, care determină stabilizarea şi ireversibilitatea legăturii Hb-glucoză, obţinându-se glucohemaglobinele (HbA_1).

Glucoza fixată pe hemoglobină este stabilă 3-4 luni până când eritrocitul moare.

Prin dozarea analitică a HbA_1 este posibilă evaluarea metabolismului glucidic, inclusiv eficacitatea tratamentului la un diabetic, pe durata ultimelor 6 - 8 săptămâni. Dacă există perioade mai lungi cu stări de hiperglicemie se leagă mai multă glucoză de Hb şi nivelul HbA_1 va fi şi va rămâne ridicat.

Spre deosebire de o determinare a glicemiei, care arată numai o stare momentană a glicemiei şi astfel poate să ne inducă în eroare, HbA_1 arată în ansamblu „trecutul" pacientului. De aceea HbA_1 este cunoscută şi sub denumirea de „memoria glicemiei".

Indicatorul nivelului glicemiei din ultimele 2-3 luni, cel mai specific, este valoarea hemaglobinei glicozilate (HbA_{1c}). Valoarea HbA_{1c} peste 7% confirmă diagnosticul de diabet zaharat şi necesită tratament.

Determinarea HbA_1 se efectuează cu „NOBIFLOW HbA_1-Unitest" bazat pe cromatografie cu răşini schimbătoare de ioni.

Tehnicile colorimetrice se bazează pe transformarea hexozelor fixate pe Hb sub acţiunea acidului sulfuric concentrat în 5-hidroximetil-furfurol care este dozat colorimetric cu acid tiobarbituric.

Metoda radioimunologică este o metodă rapidă ,sensibilă şi nu este afectată de produşii labili. Valoarea normală a HbA_1 depinde de metoda de dozare.

Dozarea hemoglobinei glicozilate (HbA_1) este importantă pentru evaluarea stadiului diabetului zaharat. S-a demonstrat că HbA_1 în concentraţii crescute se corelează cu microalbuminuria la pacienţii cu diabet insulino-dependent, prevestind nefropatia diabetică clinică şi retinopatia diabetică.

Dozarea HbA_1 la bolnavii cu diabet non-insulinodependent la un interval de 6 luni şi o dată la 3 luni la bolnavii cu diabet insulinodependent, permite instituirea unor măsuri terapeutice care pot preveni sau întârzia apariţia complicaţiilor cronice ale diabetului.

Acest test se utilizează la instituirea tratamentului de lungă durată şi la interpretarea cazurilor, corelat cu valoarea glicemiei (monitorizarea bolnavilor de diabet).

Trebuie subliniat că o singură valoare ridicată la o singură determinare nu permite punerea diagnosticului. În acest scop explorarea metabolismului glucidic beneficiază de probe care se adresează atât nivelului său sanguin cât şi factorilor care concură la menţinerea acestuia.

Pentru punerea diagnosticului de diabet zaharat, glicemia à jeun trebuie să depăşească valoarea de 126 mg/dL la cel puţin două determinări succesive.

2. Probe de încărcare

Testul de toleranţă la glucoză pe cale orală – TTGO sau proba hiperglicemiei provocate

Reprezintă mijlocul cel mai utilizat şi mai sensibil în depistarea precoce a diabetului. Se recoltează bolnavului dimineaţa pe nemâncate o probă de sânge în vederea determinării glicemiei, după care se administrează per os de regulă 100 g glucoză în 250 mL apă (cantitatea de glucoză este variabilă). Din 30 în 30 de minute timp de 2 - 3 ore, se fac prelevări de sânge venos în care se determină glicemia.

În mod normal nivelul glicemiei înainte de administrarea orală nu trebuie să depăşească 100 - 120 mg/100 mL, la 120 min. să nu depăşească 120 mg/100 mL, iar la 30 - 60 - 90 min. să nu depăşească 180 mg/100 mL *(Fig. 6).*

Prezenţa hiperglicemiei pe nemâncate, panta hiperglicemică peste 160 - 170 mg/100 mL, panta hiperglicemică prelungită peste 2 - 2 şi 1/2 ore sunt indici ai unui diabet.

Probe de sensibilitate la insulină

Proba hipoglicemiei insulinice se utilizează în diagnosticul hipoglicemiilor datorate deficitului de hormon somatotrop.

După recoltarea unei probe de sânge se administrează bolnavului i.v. 0,1 U insulină/kg.c., făcându-se apoi prelevări la intervale de 10 - 15 min până la 90 -120 min. Valorile glicemiei la persoanele sănătoase sunt reduse în primele 15 -30 min cu 65% din cele ale probei martor şi revin la normal în maximum 2 ore; scăderi marcate ale acestor valori se întâlnesc în insuficienţe hipofizare şi corticosuprarenale (atenţie la coma hipoglicemică).

În laborator se mai efectuează probe care modifică echilibrul hormonal (proba la glucagon, proba la tolbutamidă) şi testul de toleranţă prin care se urmăreşte capacitatea ficatului de a trasforma toate monozaharidele în glucoză. Pentru aceasta se administrează galactoză şi fructoză şi se urmăreşte transformarea lor în glucoză.

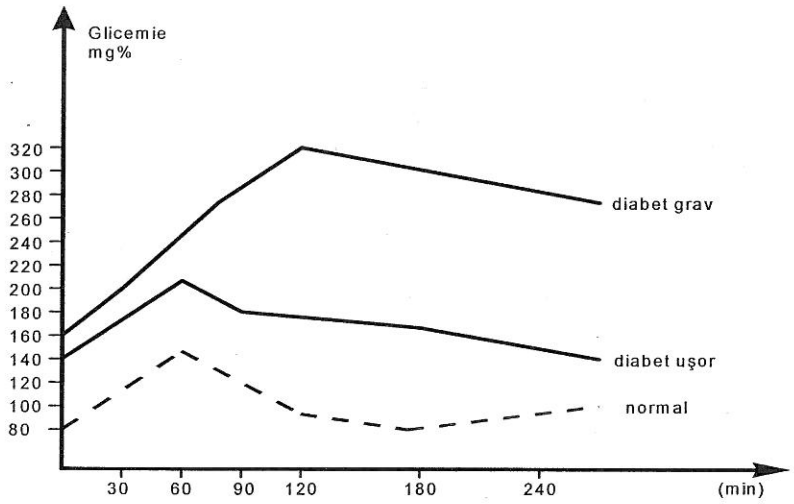


Fig. 6 - Proba hiperglicemiei provocate

Acizii organici

Acidul lactic. Este un produs important al glicolizei anaerobe fiind prezent în ser în concentraţie de 1 - 1,5 mEq/L sau 9 - 15 mg/100 mL.

Provine mai ales din eritrocite şi din muşchi, elemente cu intensă glicoliză anaerobă. Se cunosc creşteri în hepatopatii, insuficienţă cardiacă sau după eforturi fizice foarte grele, post traumatic, post operator, insuficienţă respiratorie acută. Acidoza lactică apare cu o frecvenţă mare şi la diabetici. La diabeticii trataţi cu insulină şi cu biguanidine există o tendinţă pronunţată spre valori crescute ale lactatului.

Manifestările clinice nu prezintă un tablou caracteristic dar există o serie de manifestări specifice. Boala apare mai frecvent la vârstnici. Debutul este de obicei brutal. Starea de cunoştinţă variază de la o simplă obnubilare până la coma profundă. Este prezentă deshidratarea cu oligo-anurie, hipotermie. Sunt prezente tulburările respiratorii, inclusiv respiraţia de tip Kussmaul, dar fără miros de acetonă.

Determinarea acidului lactic se efectuează prin transformarea lui în acetaldehidă, care formează în prezenţa ionilor de Cu, un complex colorat cu parahidroxi-difenilul.

Acidul piruvic provine din metabolismul glucidic, punct central în care se întâlnesc metabolismele glucidic, lipidic, protidic. El are o concentraţie mică, de 0,9 - 1,2 mg/100 mL. Creşte în deficienţa de vitamină B_1, în cursul exerciţiilor fizice grele şi în alcoolism.

Date de laborator

Pentru dozarea corectă a lactatului şi a piruvatului recoltarea sângelui necesită o serie de condiţii speciale cum sunt: repausul la pat al bolnavului cu cel puţin 30 de minute înaintea recoltării probei, recoltarea se face fără garou pentru a evita hemoliza, serul se păstrează la gheaţă.

Metodele de dozare sunt chimice sau enzimatice.

În funcţie de valoarea lactacidemiei creşterile pot fi minore (până la 5mEq/L), medii (5-10mEq/L) şi majore (peste 10 mEq/L).

Lipidele serice

Lipidele reprezintă grupul eterogen al compuşilor organici ce conţin în structura lor acizi graşi sau pot forma esteri cu aceştia.

În organism lipidele pot fi de constituţie, de depozit şi circulante. Lipidele circulante sunt cele mai explorate în mod curent.

În privinţa valorilor normale ale lipidelor plasmatice, deşi s-au stabilit pe baze statistice anumite medii şi limite, nu există o unitate de vederi, de aceea interpretarea unei fracţiuni lipidice trebuie făcută în corelare cu celelalte fracţiuni.

Valorile normale ale lipidelor serice depind în mare măsură de alimentație, modul de viață, vârstă, sex. În tabelul 1 redăm fracțiunile lipidice cele mai investigate în laborator.

TABELUL NR. 1

Valori normale ale lipidelor serice

Fracțiunea lipidică	*mg/100 mL*	*Valori medii*
Acizi grași liberi	5 - 25	15
Trigliceride	50 - 150	95
Fosfolipide	160 - 260	210
Colesterol liber	40 - 50	40
Colesterol esterificat	80 - 150	120
Colesterol total	120 - 200	160
Total lipide	600 - 800	700

Odată cu înaintarea în vârstă şi limitele superioare sunt mai ridicate.

La nivelul hepatocitului, lipidele plasmatice se pot combina cu anumite proteine (apoproteine) şi astfel dobândesc noi proprietăți fizico-chimice devenind solubile în mediu apos sub forma macromoleculelor lipoproteice.

Acizii graşi sunt prezenți fie sub formă de acizi graşi neesterificați sau liberi (AGL), fie sub formă esterificată cu glicerolul în trigliceride şi fosfolipide sau cu colesterolul. Dintre acizii graşi liberi amintim: acidul palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic şi arahidonic (precursor al prostaglandinelor).

Acizii graşi fiind greu solubili în apă sunt transportați de către serumalbumină la ficat şi muşchi unde sunt metabolizați. Ei furnizează o parte importantă de energie necesară organismului.

Trigliceridele sau grăsimile neutre sunt esteri ai glicerolului cu trei diverşi acizi graşi. Peste 95% din lipidele țesutului adipos sunt trigliceride. Principalul rol al trigliceridelor este de a stoca energia şi de a elibera la nevoie acizi graşi pentru procesele de oxidare din țesuturi.

Creşterea concentrației trigliceridelor poate duce la creşterea plasmatică a VLDL, a chilomicronilor sau a ambelor. De obicei hipertrigliceridemia este secundară altor maladii şi este asociată cu:

- obezitate
- scăderea plasmatică a HDL – colesterolului
- hiperuricemie
- alcoolism
- pancreatită acută

- diabet zaharat
- sindrom nefrotic
- hipotiroidism

Ultimele trei maladii sunt însoțite de hipercolesterolemie.

Fosfolipidele conțin în structura lor acid fosforic, alături de acizi graşi şi un alcool (în majoritate glicerol).

Principalele fosfolipide din organism sunt: lecitinele, cefalina, acidul fosfatidic, fosfatidilserina, sfingomielinele.

Principalul rol fiziologic al fosfolipidelor este participarea la alcătuirea membranelor biologice.

Colesterolul este un element structural esențial al membranelor celulare şi al diverselor organite celulare. În plus, colesterolul este un precursor obligatoriu al acizilor biliari şi al hormonilor steroizi.

Cea mai mare parte a colesterolului provine din sinteza endogenă (aproximativ 1 g zilnic) în timp ce colesterolul ingerat nu depăşeşte 0,6 g zilnic, în cazul unei diete obişnuite. Dacă inițial s-a crezut că ficatul reprezintă sediul unic pentru sinteza colesterolului endogen, ulterior s-au stabilit şi alte surse, cum sunt: muşchii, tubul digestiv, rinichii, pielea etc.

Esterificarea colesterolului are loc în ficat, în circulație (sub influența unei enzime produse în ficat, numită lecitin-colesterol-acyl-transferaza sau LCAT), în peretele intestinal şi alte țesuturi. În ficat aproximativ 2/3 din colesterol se află sub formă liberă şi numai 1/3 este esterificat, spre deosebire de colesterolul plasmatic care este în proporție de 2/3 esterificat.

Reglarea biosintezei hepatice a colesterolului se face prin intervenția mai multor factori, dintre care:

a. aportul alimentar (o alimentație bogată în colesterol inhibă sinteza hepatică a colesterolului);

b. hormonii: cortizonul şi noradrenalina au efect hipercolesterolemiant, iar estrogenii, insulina şi tiroxina au efect hipocolesterolemiant.

Eliminarea colesterolului din organism are loc pe două căi principale, şi anume: transformarea în acizi biliari şi excreția de steroli neutri în fecale. O altă cale de eliminare a colesterolului este transformarea lui în hormoni steroizi, a căror produşi de degradare se elimină prin urină.

Valorile normale ale colesterolului total: până la 50 de ani 120 - 200 mg/100 mL ser. Raportul colesterol esterificat/colesterol total E/T = 0,65 - 0,75.

Dereglările colesterolului se întâlnesc cel mai frecvent sub formă de creşteri peste valorile normale, realizând hipercolesterolemii care pot fi esențiale sau secundare.

Hipercolesterolemia esențială (familială) este o boală ereditară, transmisă autosomal dominant, caracterizată prin creşteri mari ale colesterolului plasmatic, aproximativ 800 mg/100 mL, şi se asociază cu creşteri ale fosfolipidelor, trigliceridelor şi betalipoproteinelor.

Hipercolesterolemiile secundare

Hipercolesterolemia poate fi asociată sau nu cu o uşoară creştere a trigliceridelor şi aproape întotdeauna de creşterea plasmatică a LDL –colesterolului. Hipercolesterolemii se întâlnesc în:

- aterosclerozã
- diabet zaharat
- obezitate
- hipotiroidii
- sindrom nefrotic

Hipocolesterolemia se întâlneşte în toate afecțiunile hepatocelulare grave: este scăzută în special fracțiunea esterificată ca urmare a defectului de esterificare hepatică, dar mai ales a diminuării activității lecitin-colesterol-acyl-transferazei (consecința insuficientei sale sinteze hepatocelulare). Scăderea colesterolului se obsevă uneori şi la pacienții cu boli acute. La copii, adolescenți şi tineri colesterolemia nu este constantă în timp, ea se poate modifica în sensul creşterii sau scăderii acesteia.

Transportul plasmatic al lipidelor

1. Transportul de lipide absorbite la nivelul intestinului spre rezervele din țesutul adipos, spre ficat şi spre țesuturile consumatoare se realizează sub formă de chilomicroni.

2. Transportul de lipide mobilizate din rezervele țesutului adipos spre ficat şi țesuturile consumatoare (musculatura) se realizează sub formă de acizi graşi liberi (AGL) fixați de albuminele serice.

3. Transportul de lipide sintetizate la nivelul ficatului spre rezervele de țesut adipos şi spre țesuturile consumatoare se realizează sub formă de *lipoproteine.*

Lipoproteinele

Lipidele, nefiind solubile în mediu apos, circulă în plasmă sub forma unor asociații moleculare cu proteinele care le asigură solubilitatea. Complexele moleculare astfel formate sunt *lipoproteinele*

(LP). Individualitatea lor este conferită, pe de o parte, de componenta proteică (apoproteina), iar pe de altă parte de natura şi de proporţia fracţiunilor lipidice: trigliceride, colesterol, fosfolipide. Lipoproteinele sunt formate dintr-un nucleu central constituit din colesterol esterificat şi trigliceride şi un strat periferic alcătuit din apoproteine, colesterol liber şi fosfolipide.

Apoproteinele, componentele proteice ale lipoproteinelor, sunt denumite după literele alfabetului (apo-A, apo-B, C, D, E) urmate de o cifră (AI, AII) deoarece în interiorul aceleiaşi familii de apoproteine structura primară este diferită.

Apoproteinele îndeplinesc mai multe roluri, printre care: cel structural, activator sau inhibitor enzimatic şi cel de recunoaştere de către receptorii specifici (de exemplu receptorul LDL recunoaşte lipoproteinele care conţin apo-E şi apo-B100).

Clasificarea lipoproteinelor

Prin ultracentrifugare ,care se bazează pe diferenţa de densitate în raport cu conţinutul în lipide şi proteine, în ser s-au separat 4 fracţiuni lipoproteice:

- chilomicronii
- lipoproteine cu densitate foarte mică VLDL (very low density lipoproteins)
- lipoproteine cu densitate mică LDL (low density lipoproteins)
- lipoproteine cu densitate mare HDL (high density lipoproteins)

Lipoproteinele pot fi separate şi prin electroforeză datorită componentelor proteice. Prin electroforeză pe geluri de agaroză sau poliacrilamidă s-au separat 4 fracţiuni:

- chilomicronii care rămân la linia de start
- pre β lipoproteinele corespunzătoare VLDL
- β lipoproteinele corespunzătoare LDL
- alfa lipoproteinele corespunzătoare HDL

Chilomicronii sunt prezenţi în plasmă după ingerare de alimente bogate în grăsimi. După 6-7 ore de la ingestia de grăsimi, chilomicronii dispar din sânge. Serul obţinut din sângele recoltat dimineaţa după 8-10 ore de nemâncare, în mod normal nu conţine chilomicroni.

Lipoproteine cu densitate foarte mică (VLDL, pre β lipoproteine) au un conţinut ridicat în lipide (89-94%) în care predomină trigliceridele (55-65%), fosfolipide (12-18%), colesterol esterificat (12-14%), colesterol liber (6-8%).

Sângele recoltat dimineaţa după 8-10 ore de nemâncare, la un individ sănătos, nu conţine VLDL, deoarece acesta este rapid catabolizat de către lipoproteinlipază. Rolul său principal este de a transporta

trigliceridele din ficat spre țesuturile extrahepatice. După ingestia de glucide în cantitate mare VLDL este prezent în plasmă deoarece excesul caloric de glucoză este convertit în ficat în trigliceride şi exportat sub formă de VLDL. Când producția de trigliceride este mare şi depăşeşte capacitatea ficatului de a sintetiza şi transporta VLDL, se vor acumula grăsimi în ficat (infiltrația grăsoasă a ficatului, steatoză)

Lipoproteine cu densitate mică (LDL, β -lipoproteine) conțin 75-80% lipide din care cantitatea cea mai mare este reprezentată de colesterolul esterificat (35-40%), colesterol liber (5-10%), fosfolipide (20-25%) şi trigliceride în cantități mici (8-12%). În sângele recoltat dimineața după 8-10 ore de post este prezent LDL şi conține 70% din colesterolul total plasmatic. Concentrația LDL-c trebuie să fie mai mică de 130 mg/dL.

Determinarea LDL dă indicii mai exacte decât concentrația colesterolului total ca factor de risc în ateroscleroză.

Lipoproteine cu densitate mare (HDL, α lipoproteine) conțin 50-55% lipide din care 20-30% fosfolipide, 17-23% colesterol şi cantități mici de trigliceride 3-6%. Dintre apolipoproteine componenta majoritară este apo-A (apo-AI şi apo-AII) şi în cantități mai mici apo-C, apo-E şi apo-D.

HDL sunt sintetizate în hepatocite şi celulele intestinale sub forma unor particule mici discoide conținând fosfolipide, colesterol liber, apo-A şi apo-E (HDL-"născânde"). Acestea se transformă în celule mature, un rol esențial în această transformare avându-l LCAT (lecitincolesterol acil transferaza) activată de apo-AII (component al HDL "născânde"). Sub acțiunea LCAT are loc esterificarea colesterolului liber. Cea mai mare parte a colesterolului esterificat este transformat în LDL, VLDL şi chilomicroni şi depozitat în ficat. O mică cantitate este preluată de HDL şi migrează în interiorul particulei, acum sferice. O parte din colesterol este preluat de stratul superficial al HDL direct din țesuturi. Astfel, HDL transportă colesterolul de la țesuturile extra-hepatice la ficat unde are loc catabolizarea şi transformarea în acizi biliari, care vor fi excretați prin bilă. Când concentrația VLDL sau a chilomicronilor este scăzută, cea mai mare parte a apo-CII este preluată de HDL. Dacă concentrația trigliceridelor în plasmă este ridicată, aceste particule preiau apo-CII de la HDL. După ce trigliceridele au fost hidrolizate, apoproteinele se reîntorc la particulele de HDL.

În sângele recoltat dimineața după 8-10 ore de nemâncare este prezent HDL şi conține 30% din colesterolul total plasmatic.

HDL la femei are valori cuprinse între 45-65 mg/100 mL, iar la bărbați 35 - 45 mg/100 mL.

Concentrația HDL la femei este mai mare decât la bărbați şi decât la femeile la menopauză, deoarece sinteza HDL este influențată de către hormonii estrogeni.

Subiecții ce prezintă valori crescute ale HDL au risc scăzut de a face ateroscleroză.

Variații patologice ale lipemiei

Modificarea concentrației lipidelor plasmatice totale sau a raportului dintre fracțiunile lipidice este denumită *dislipidemie.*

Hipolipemiile în principiu pot fi consecința unei sinteze deficitare de lipoproteine, a unui catabolism exagerat al acestora sau datorită unui defect de resorbție.

Hipolipemii fiziologice se înlâlnesc la nou-născuți, dar după prima săptămână de viață concentrația lipidelor creşte brusc, iar la aproximativ 4 luni se stabileşte la valorile întâlnite la copiii între 1 - 16 ani.

Hipolipemii patologice secundare se întâlnesc în denutriție şi în anemiile severe. Colesterolul şi betalipoproteinele scad şi în hipertiroidism datorită unei catabolizări accelerate. Deşi ficatul are un rol esențial în sinteza lipoproteinelor serice scăderea evidentă a lipidelor şi lipoproteinelor serice se constată doar în cirozele avansate. Bolile intestinale cu tulburări de reabsorbție însoțite de diaree grasă pot determina o scădere a lipidelor circulante.

Hipolipemiile patologice primare sunt afecțiuni cu caracter familial cauzate de un deficit genetic în procesul de sinteză al lipoproteinelor. Sunt maladii rare caracterizate prin scăderea concentrației lipidelor plasmatice cu acumularea lipidelor în țesuturi.

Deficitul familial de HDL – boala Tangier –se caracterizează prin creşterea anormală a apolipoproteinei apo-A care duce la deficitul de HDL. Boala e însoțită de o acumulare de esteri ai colesterolului în sistemul reticuloendotelial. Caracteristic este acumularea de colesterol în amigdale cărora le imprimă un aspect gălbui de fagure de miere.

Abetalipoproteinemia – adică deficiența în apo-B, este cauzată de un deficit genetic în sinteza betalipoproteinelor. Această deficiență duce la lipsa chilomicronilor (postprandial) şi a VLDL. Boala are repercursiuni asupra absorbției lipidelor ceea ce explică steatoreea, deficitul de vitamină A, afectarea retinei.

Deficitul în LCAT – lecitincolesterol acil transferaza. Boala are un caracter autozomal recesiv şi se datoreşte lipsei enzimei LCAT care

catalizează reacția de esterificare colesterolului. Ca urmare se va acumula colesterol liber în diverse țesuturi. Aceasta conduce la ateroscleroză prematură, opacitate corneeană, afecțiuni renale şi anemie. Modificările lipidelor şi a lipoproteinelor serice pot duce la proteinurie, boala evoluînd spre insuficiență renală.

Hiperlipemiile

Apariția hiperlipemiilor denotă existența unui dezechilibru între procesul de formare a lipoproteinelor şi mecanismele de îndepărtare a acestora din circulație.

Hiperlipemiile pot fi împărțite în *primare* (familiale) şi *secundare* (sau câştigate).

Hiperlipemiile secundare pot apare în situații extrem de variate, cum ar fi: diabetul, alcoolismul, insuficiența renală cronică, sindromul nefrotic, hipotiroidismul, guta, obstrucții ale căilor biliare, tratamentul cu estrogeni (anticoncepționale orale), acromegalia, boala Addison, graviditatea, intoxicația cu vitamina D.

Modificările lipidelor serice la alcoolici se caracterizează în special prin creşterea trigliceridelor şi a colesterolului neesterificat. Se pare că la alcoolici se încetineşte procesul de eliminare a trigliceridelor din plasmă (activitate redusă a lipoproteinlipazei) şi a oxidării acizilor graşi cauzată de alcool.

Uneori, după un puseu acut de alcoolism, plasma poate deveni lactescentă.

Hiperlipemia din hipotiroidism se manifestă prin creşterea colesterolului şi a fosfolipidelor datorită unei încetiniri a transformării acestui compus spre săruri biliare.

Dislipidemiile ereditare, familiale sunt datorate alterării genelor care controlează sinteza, transportul şi utilizarea lipoproteinelor. Hiperlipoproteinemiile primare, familiale au fost clasificate de Fredrickson în cinci tipuri, tipul II manifestându-se în două variante II a şi II b.

Hiperlipoproteinemia **de tip I** se caracterizează prin prezența chilomicronilor şi a trigliceridelor în cantitate mare. Boala se datoreşte unei insuficiențe genetice a lipoproteinlipazei cu rol în scindarea lipoproteinelor din chilomicroni. Boala se manifestă în primele luni de viață prin hiperlipemie retiniană, hepatosplenomegalie şi dureri abdominale după un prânz gras.

Hiperlipoproteinemia **de tip II** sau hiperbetalipoproteinemie, se datoreşte creşterii concentrației LDL şi a VLDL. Se clasifică în tipul II a, forma pură şi tipul II b la care mai cresc şi şi trigliceridele. Tipul esențial se caracterizează prin depunerea de lipide în țesuturi (xantoame).

Hiperlipoproteinemia **de tip III** sau hiperproteinemie cu banda β lărgită. Lipidograma cuprinde o bandă β largă care acoperă şi zona pre-beta, datorită formării unei lipoproteine anormale cu propietăţi asemănătoare LDL şi VLDL. Se mai numeşte *bisbetalipoproteinemie* sau boala palmelor galbene (xantomatoza palmo-digitală). Se transmite recesiv, se manifestă la vârstă adultă cu risc crescut pentru accidente vasculare.

Hiperlipoproteinemia **de tip IV** sau hipertrigliceridemie. Se datoreşte creşterii concentraţiei de trigliceride şi VLDL. Manifestările clinice apar după vârsta de 20 ani şi se asociază adesea cu diabetul ,obezitatea. Riscul major îl constituie ateroscleroza prematură. Boala este familială, dar prezintă şi o formă secundară neereditară întâlnită în ateroscleroză, alcoolism, glicogenoze.

Hiperlipoproteinemia **de tip V** sau hipertrigliceridemie de tip endo şi exogen, hiperprebetalipoproteinemie, hiperchilomicronemie. Se caracterizează prin creşterea chilomicronilor şi a trigliceridelor în serul „a jeun" care apare lactescent. Manifestările clinice apar la vârsta adultă şi constau în hepatosplenomegalie, pancreatită, colici abdominale. Boala prezintă risc crescut pentru arterioscleroză.

Lipidele şi ateroscleroza

Din punct de vedere biochimic ateroscleroza se caracterizează prin depunerea de esteri ai colesterolului şi de alte lipide în ţesutul conjunctiv al pereţilor arteriali.

S-a arătat că incidenţa aterosclerozei şi mortalitatea prin infarct miocardic este mai crescută la populaţiile din ţările puternic industrializate la care nivelul colesterolemiei este mai ridicat. Printre factorii de mediu incriminaţi în aceste fenomene se numără supraalimentaţia şi în special alimentaţia mai bogată în grăsimi de origine animală, stări de încordare psihică şi sedentarismul.

Studii clinice şi de laborator au arătat că leziunile aterosclerotice survin frecvent în diabetul zaharat, nefroze şi hipotiroidism, afecţiuni în care nivelul colesterolului seric este ridicat.

Se constată şi cazuri de ateroscleroză clinic manifestă care nu prezintă hiperlipemie. O explicaţie a acestui fenomen, în unele cazuri, este constatarea că la vârstnici (peste 65 ani) nivelul lipidelor serice tinde adeseori să scadă.

Ateroscleroza trebuie privită ca o boală generală metabolică , iar din punct de vedere clinic ca o boală arterială, respectiv cardio-

vasculară. Se caracterizează prin acumulare de lipide pe pereții arteriali. În ordinea frecvenței interesează arterele coronare, cerebrale, arterele membrelor inferioare, renale, etc. inițial leziunile aterosclerotice se prezintă sub forma unor pete sau benzi de culoare galbenă datorită depozitelor de lipide. Ulterior se dezvoltă plăcile ateromatoase caracterizate prin îngroşarea peretelui arterial la nivelul depunerii de lipide. În fazele avansate apar procese ulcerative, necrozante, uneori plăcile aterosclerotice se calcifică. Boala are o evoluție lungă, timp de decenii, uneori cu perioade de latență sau regresiune.

Inițial ateroscleroza nu e insoțită de manifestări clinice. Simptomatologia clinică este dată de procesul avansat de obstrucție arterială care prin deficitul de irigație duce la suferințe de organ. Astfel se constată tulburări funcționale cardio-vasculare (amețeli, palpitații, tulburări de vedere) iar într-o fază mai avansată apar manifestări de organ sau complicațiile care depind de localizarea plăcilor ateromatoase.

Localizarea de preferință a leziunilor aterosclerotice este pe arterele mari şi mijlocii, pe primul loc situîndu-se aorta, coronarele, arterele cerebrale.

Datele de laborator demonstrează că o lipemie peste 800 mg/100mL, o colesterolemie peste 260 mg/100mL şi nivelul trigliceridelor peste 180 mg/100mL, reprezintă un risc ridicat pentru ateroscletoză.

Interpretarea datelor de laborator

Colesterol total	*Trigliceride*	*LDL colesterol*	HDL - colesterol	
			bărbați	*femei*
Nu necesită tratament				
mg/100 mL < 200	< 150	< 130	> 55	> 65
m mol/L	< 1,7	< 3,36	>1,4	>1,7
Suspiciune de tratament - în atenția medicului				
mg/100 mL 200 - 260	150 -180	150 - 180	35 - 55	45 -65
m mol/L 5,2 - 6,7	1,7 - 2,3	3,9 - 4,6	0,9 - 1,4	1,2 - 1,7
Risc crescut				
mg/100 mL > 300	> 200	>180	< 35	< 45
m mol/L > 7,7	> 2,3	> 4,6	< 0,9	< 1,2

O protecție împotriva aterosclerozei este dată de nivelul HDL – colesterol. Cu cât nivelul acestuia este mai crescut cu atât riscul de instalare al aterosclerozei este mai mic. Când valoarea HDL este mai mică de 35 mg/100 mL pentru bărbați şi mai mică de 45 mg/100mL pentru femei, există risc crescut pentru ateroscleroză.

Majoritatea laboratoarelor clinice măsoară colesterolul total, trigliceridele totale şi HDL-colesterolul. Cea mai mare parte a trigliceridelor se găseşte în particulele VLDL, într-o concentraţie ce depăşeşte de cinci ori pe cea a colesterolului. De aceea, cantitatea de colesterol din fracţiunea VLDL se poate estima prin împărţirea trigliceridelor la 5.

$$\text{VLDL colesterol} = \frac{\text{Trigliceride}}{5}$$

Această formulă este valabilă în condiţii à jeun.

Colesterolul total este relativ stabilit în timp, totuşi valorile HDL şi în special a trigliceridelor pot varia din cauza erorilor analitice de laborator şi a variaţiilor biologice ale nivelelor lipidice ale pacientului. Din acest motiv, LDL se va estima întotdeauna făcând media a două determinări. Dacă cele două determinări diferă cu mai mult de 10% este necesară efectuarea unei noi determinări.

Calcularea LDL colesterolului se face astfel:

$$\text{LDL colesterol} = \text{colesterol total} - \text{HDL colesterol} - \frac{\text{Trigliceride}}{5}$$

Unele clinici utilizează raportul colesterol total/HDL – colesterol ca indicator al riscului coronarian în funcţie de lipide: cu cât raportul este mai mic, cu atât evoluţia este mai bună.

Lipidele şi maladiile cardiovasculare

Hipercolesterolemia este factorul major al bolilor cardiovasculare, alături de fumat şi de hipertensiune.

Există o corelaţie strânsă între creştere plasmatică a LDL-colesterolului, scăderea HDL –colesterolului plasmatic şi instalarea maladiilor cardiovasculare. Astfel, la 95% din cazurile de cardiopatie ischemică cauza este ateroscleroza coronarelor care conduce la

reducerea sau întreruperea aportului sanguin la nivelul miocardului. În raport cu gradul de îngustare a lumenului coronarian se produc grade diferite de "insuficienţă coronariană".

Cardiopatia ischemică

Cardiopatia ischemică, sinonim cu cardiopatia coronariană aterosclerotică, "boala coronariană", este o cardiomiopatie de origine vasculară, secundară ischemiei miocardice. Cauza principală a instalării cardiopatiei ischemice este *ateroscleroza coronarelor.* În raport cu gradul de îngustare a lumenului coronarian (de obicei peste 50%) se produc grade variate de „insuficienţă coronariană".

Principalii factori de risc în dezvoltarea cardiopatiei ischemice sunt: hipertensiunea arterială, fumatul şi hipercolesterolemia (creşterea fracţiunii LDL şi scăderea HDL). Alţi factori de risc mai pot fi: hiperlipoproteinemia, sedentarismul, stressul, obezitatea, diabetul zaharat, hiperuricemia, dereglări hormonale.

Manifestările clinice ale cardiopatiei ischemice apar când necesităţile de oxigen ale miocardului sunt mai mari decât aportul.

Ischemia cardiacă poate altera contracţia şi relaxarea miocardică, ducând la disfuncţia sistolică şi diastolică. Ischemia severă dar reversibilă poate duce la perturbarea funcţiei miocardice, caz în care disfuncţia sistolică şi diastolică poate dura ore sau zile după episodul ischemic.

Ischemia severă prelungită poate determina leziune miocardică, cu eliberare de enzime. Leziunea miocardică ireversibilă apare la 20-30 de minute după întreruperea fluxului sanguin coronar.

Expresia clinică se încadrează de la moartea subită şi infarctul de miocard la tulburările de ritm cardiac şi insuficienţa cardiacă.

Date de laborator

• Raportul dintre LDL-colesterol şi HDL-colesterol este un marker a nivelului de risc. Astfel, raportul LDL-c/HDL-c ≤ 3 însemnă un risc scăzut, iar valorile peste 5, risc crescut.

• Creşte homocisteina serică şi proteina C-reactivă.

• Creşte feritina serică în cazul unui proces inflamator al peretelui vascular.

Angina pectorală

Angina pectorală reprezintă forma cea mai obişnuită şi mai frecventă de *cardiopatie ischemică dureroasă.* Este rezultatul unui dezechilibru între cererea şi aportul de O_2 la nivelul miocardului având drept cea mai frecventă cauză *obstrucţia arterosclerotică* a arterei coronare.

Substratul morfopatologic îl constituie leziunile aterosclerotice coronariene (95% din cazuri).

Manifestări clinice. Angorul este asociat în mod caracteristic cu efortul fizic şi tulburările emoţionale, când travaliul inimii creşte, deci necesităţile în O_2 cresc, consecutiv mărimii a trei factori hemodinamici: frecvenţa cardiacă, tensiunea parietală şi contractilitatea miocardului.

Urmarea acestor tulburări hemodinamice este alterarea metabolismului cardiac care duce la producerea locală de metaboliţi „patologici" (catecholamine, kinine, histamină, tromboxan A_2) denumite „substanţe producătoare ale durerii" (pain producing sunbstances - PPS), în paralel cu acumularea de acid lactic care duce la creşterea acidozei locale. Aceste substanţe constituie stimulul chimic al durerii anginoase.

Durerea este localizată în majoritatea cazurilor retrosternal, în partea superioară, mijlocie sau inferioară, mai rar în alte teritorii. Durerea se manifestă ca o senzaţie de presiune, zdrobire, arsură, mai rar junghi, constricţie. Durerea apare în cursul efortului fizic, nu după, şi dispare la întreruperea activităţii (bolnavul este obligat la aceasta), după prânzuri copioase, emoţii puternice, raporturi sexuale.

Încetarea durerii în scurt timp după administrarea de nitroglicerină reprezintă un test de diagnostic pozitiv. Testul la efort creşte precizia diagnosticului.

Date de laborator

- Dintre enzimele serice, AST-ul şi LDH-ul prezintă creşteri moderate.

Elementul de bază în diagnostic este electrocardiograma.

Hipertensiunea arterială

Hipertensiunea arterială (HTA) reprezintă un sindrom clinic caracterizat printr-o creştere a tensiunii arteriale (sistolice, diastolice sau sistolo - diastolice) cu valori peste 140/90 mm Hg, în prezenţa sau absenţa unor cauze organice detectabile.

HTA sistolo - diastolică este forma cea mai frecventă observată în practica medicală. Este o afecţiune de cauză multifactorială. În 80% din cazuri nu se poate defini un factor etiologic precis, din acest motiv se numesc *hipertensiuni primitive* sau *esenţiale.*

HTA secundară se întâlneşte în 20% din cazuri şi ea se datoreşte:

- cauzelor renale: pielonefrite, glomerulonefrite acute sau cronice, litiază renală, TBC renal, stenoza arterei renale datorată aterosclerozei renale (bărbaţi vârstnici);
- cauze endocrine: boala Cushing, boala Conn, acromegalie, hiperaldosteronism (datorat unui adenom secretar de aldosteron sau hiperplaziei suprarenalelor. În acest caz este prezentă hipokalemia la un pacient hipertensiv care nu face tratament cu diuretice.);

- alte cauze: utilizarea contraceptivelor orale, glucocorticoizilor, boli tiroidiene, hiperparatiroidism, poliartrită nodoasă.

Manifestări clinice

Majoritatea bolnavilor sunt asimptomatici. Dar HTA se poate manifesta şi prin unele tulburări funcţionale comune tuturor formelor şi anume:

- cefalee - care nu depinde strict de valoarea tensiunii arteriale. Este semnalată îndeosebi dimineaţa înainte de sculare; are sediul cervico - occipital sau se prezintă ca o hemicranie predominant periorbitală, alteori este pulsatilă însoţită de tulburări vizuale sau digestive.;
- vertij de durată variabilă;
- oboseală fizică şi intelectuală;
- insomnii, anxietate, iritabilitate;
- palpitaţii, dispnee de efort;
- parestezii, pareze trecătoare.

Complicaţiile HTA

- *Complicaţiile cerebrale ale HTA* pot fi accidente vasculare minore sau majore. Cele minore sunt consecinţa *aterosclerozei cerebrale*. Cele majore se manifestă prin hemoragie cerebrală care poate prezenta două aspecte: hemoragia cerebrală primitivă (cea mai frecventă formă clinică manifestată prin deficit neurologic, cefalee, vărsături, tulburări de conştienţă) şi hemoragia meningiană sau meningo - cerebrală.
- *Complicaţiile cardiace ale HTA.* Bolnavul HTA este predispus la insuficienţă cardiacă şi riscurile insuficienţei coronariene. Riscurile crescute de infarct miocardic ale hipertensivilor este corelat cu tensiunea arterială diastolică la tineri şi cu tensiunea arterială sistolică la vârstnici.
- *Complicaţiile renale ale HTA.*

HTA de cauză renală prezintă 20% din totalul hipertensivilor.

Complicaţia renală a HTA este insuficienţa renală prin nefroangioscleroză.

Date de laborator

În HTA se efectuează următoarele determinări:

- Determinarea colesterolului, a trigliceridelor.
- Determinarea ureei, creatininei, acidului uric. Dacă valoarea acestora este crescută în sânge, cu proteinurie mai mare de 0,10 g/24 ore denotă boală renală parenchimatoasă.
- Dozarea potasiului seric
- În HTA secundară renoparenchimatoasă cu pielonefrită cronică sunt caracteristice semnele clasice ale pielonefritei: piurie, poliurie, sindrom cistitic, leucociturie, cilindri leucocitari, uroculturi pozitive.

• În HTA secundară cu glomerulonefrită sunt caracteristice semnele renale (vezi glomerulonefrita):

- albuminurie;
- hematurie;
- scăderea filtratului glomerular;

Infarctul miocardic acut

Infarctul miocardic acut (IMA) este un sindrom clinic determinat, în majoritatea cazurilor, de necroza ischemică a unei zone de miocard apărută datorită scăderii bruşte a fluxului sanguin coronarian.

Etiologia infarctului miocardic acut este reprezentată, în aproape toate cazurile, de *ateroscleroza coronariană*.

Factorii de risc pentru ateroscleroză coronariană sunt: hipercolesterolemia, hipertensiunea arterială, fumatul, diabetul zaharat, stressul, sedentarismul.

Infarctul miocardic acut se produce cel mai frecvent pe fondul unei obstrucții aterosIcerotice extinse şi avansate, prin reducerea bruscă a lumenului coronarian.

Cauzele neaterosclerotice de infarct miocardic, mult mai rare decât ateroscleroza coronariană, sunt: embolii coronariene, trombozele coronariene, spasmul coronarian, anomalii congenitale coronariene, vasculite etc.

Scăderea bruscă a oxigenării miocardice determină alterări progresive ale tuturor structurilor miocardice, concomitent cu suprimarea metabolismului aerob, activarea metabolismului anaerob, apariția acidozei, scăderea cantității de ATP, alterarea contracției miocardice. Aceste modificări sunt parțial reversibile în primele zeci de minute. Dacă ischemia severă se prelungeşte, modificările devin ireversibile şi apare necroza miocardică.

Manifestări clinice

Elementul dominant este durerea care poate avea caracterul coronarian tipic întâlnit în angina pectorală, dar mai intensă, atroce şi este descrisă ca strivire, constricție, lovitură. Durata este mai lungă de 30 minute, deseori ore întregi.

Durerea nu dispare la repaus sau nitroglicerină.

În aproximativ o treime din cazuri, durerea fie că nu este remarcată de bolnavi, fie că lipseşte.

Bolnavul este anxios, agitat, se observă paloarea tegumentelor acoperite cu transpirații reci. Grețurile şi vărsăturile pot însoți infarctul de miocard.

Date de laborator

Examenele de laborator trebuie să selecționeze teste care să fie specifice şi să aprecieze severitatea (întinderea) necrozei miocardice.

- *Examenele hematologice* evidenţiază:

- leucocitoză moderată, în jur de 12 000 leucocite/mm^3 putând atinge 20 000 leucocite/mm^3. Sunt crescute polinuclearele neutrofile. Creşterea numărului de leucocite apare precoce, la câteva ore după producerea necrozei şi revine la normal după 6 - 7 zile. Prelungirea leucocitozei peste 7 zile poate sugera o complicaţie infecţioasă, de obicei pulmonară;

- *VSH-ul creşte* după 1 - 2 zile şi atinge maximum la 6 - 7 zile. Revine la normal după 3 săptămâni;

- *creşte fibrinogenul* plasmatic, revine la normal după 6 - 7 zile. Creşterea este paralelă cu cea a VSH-ului.

- Examene biochimice

- creşte proteina C reactivă din primele ore;

- creşte glicemia;

Modificări enzimatice. Cea mai specifică dovadă de necroză miocardică este creşterea MB a creatinfosfokinazei (MB - CK). Evoluţia în timp este importantă pentru diagnostic. Nivelul seric al CK creşte la 3 - 6 ore, atinge maximum la 24 de ore şi revine la normal în 3 - 6 zile de la debutul bolii. După curba nivelului CK serice se poate evalua, indirect, prin calcul, masa probabilă a miocardului necrozat.

Nivelul AST creşte de la 16 - 48 de ore de la producerea infarctului, normalizându-se la 4 - 6 zile.

LDH creşte în 10 ore după instalarea infarctului miocardic, este maxim la 3 - 4 zile şi rămâne crescut 15 zile.

Determinarea izoenzimei $LDH_1/LDH_2 > 1$ permite un diagnostic precoce şi estimează întinderea necrozei.

Cele mai specifice şi de dată recentă (J. of American Association) sunt considerate proteinele miocardice *Troponina T şi I* (cTnT şi cTnI) măsurate în momentul apariţiei simptomelor şi 6-9 ore mai târziu. Valorile troponinei pot rămâne ridicate timp de 7-14 zile de la debutul infarctului miocardic.

Determinarea lipidelor serice

Concentraţia lipidelor plasmatice şi a lipoproteinelor este labilă şi influenţată de alimentaţie, fumat, consumul de alcool şi stress. Din acest motiv recoltarea probelor trebuie să se efectueze în anumite condiţii, precum:

- Determinările să se efectueze pe plasmă sau ser recoltate la 8-12 ore după ultima masă cu lipide.

- Bolnavul nu trebuie să ingere medicamente care să influenţeze lipidele plasmatice.

- Stress-ul poate afecta concentraţia lipidelor plasmatice. Determinarea lipidelor plasmatice se va face după trei luni de la declanşarea unui infarct miocardic, a unei intervenţii chirurgicale majore sau a oricărei maladii grave.

• Concentraţia lipoproteinelor este afectată de staza venoasă şi de poziţia organismului. Concentraţia colesterolului plasmatic poate creşte cu 10% în poziţie verticală faţă de poziţia culcat.

• Probele de sânge nu trebuie heparinizate iar plasma sau serul să fie separate de elementele figurate cât mai curând posibil.

Indicaţii pentru determinarea lipidelor plasmatice.

Hiperlipemia poate fi diagnosticată uneori şi datorită aspectului opalescent sau lactescent al plasmei sau datorită cauzelor clinice, cum sunt:

• maladii cu factori crescuţi de risc ca: diabetul zaharat şi hipertensiunea.

• evidenţierea maladiilor arteriale la un individ relativ tânăr

• antecedente familiale.

Multe cauze ale hiperlipidemiei sunt secundare altor factori, cum sunt:

– ingestia crescută de alcool care duce la creşterea trigliceridelor plasmatice;

– dieta crescută în lipide. În aceste cazuri bolnavul trebuie să consume o dietă săracă în colesterol şi acizi graşi saturaţi timp de 3 luni înaintea efectuării testării. Dacă după trei luni de dietă se menţine hiperlipidemia, înseamnă o anormalitate primară.

Aspectul plasmei poate furniza date importante. Astfel, dacă plasma este conservată 18 ore la 4°C chilomicronii cu densitate mică formează un inel cremos la suprafaţă. Particulele VLDL cu densitate mare nu se ridică la suprafaţă, astfel plasma va prezenta o turbiditate. Pe baza acestui test simplu se pot identifica 3 tipuri principale:

• o creştere a concentraţiei LDL-colesterolului asociată cu o plasmă limpede este datorat:

- hipercolesterolemiei familiale;
- hipelipidemiei combinată familială;

• o creştere predominantă a trigliceridelor asociată cu o opalescenţă sau lactescenţă a plasmei, poate fi datorată

- hiperlipidemiei familiale (VLDL);
- hipertrigliceridemiei familiale endogene (VLDL);
- hiperchilomicronemiei familiale.

• o creşteré simultană în plasmă a concentraţiei colesterolului şi a trigliceridelor în aceeaşi proporţie poate fi dată de:

- hiperlipidemia familială combinată (LDL şi VLDL).
- disbetalipoproteinemia familială.

Dozarea colesterolului total (CT) *şi a trigliceridelor* (TG)

Se efectuează prin metode enzimatice:

Pentru recunoaşterea factorului de risc în arterioscleroză se recomandă următoarele limite:

• nu prezintă risc valori mai mici de 200 mg% (5,2 mmol/L)

- nivel standard de risc: 200-260 mg% (5,2-6,8 mmol/L)
- nivel ridicat de risc: peste 260 mg% (peste 6,8 mmol/L)

Valorile normale ale TG sunt cuprinse între 50-150 mg%.

Dozarea HDL-colesterolului se efectuează enzimatic. Valorile normale sunt:

- la bărbaţi > 55 mg%
- la femei > 65 mg%
- la copii > 72 mg%

Studii statistice au arătat că bolnavii cu cardiopatie ischemică au valori scăzute ale HDL- colesterolului. Risc crescut:

- la bărbaţi < 35 mg%
- la femei < 45 mg%
- la copii < 51 mg%

Determinarea LDL –colesterolului

Se poate calcula după formula LDL mg% = CT – HDL – TG/5 (relaţie valabilă dacă TG sunt mai mici de 500 mg%)

- valori normale < 130 mg%
- risc coronarian mediu 130-159 mg%
- risc coronarian crescut > 160 mg%

Electroforeza lipoproteinelor în poliacrylamid, gel de agaroză, poate diagnostica peste 90% din hiperlipoproteinemii. Electroforeza se impune mai ales dacă serul este lactescent. Metoda permite identificarea cu precizie a hiperlipoproteinemiei.

Ultracentrifugarea permite separarea lipoproteinelor în 4 clase majore: chilomicronii, VLDL, LDL şi HDL.

Ultracentrifugarea analitică permite obţinerea unor informaţii complete asupra compoziţiei fiecărei clase. Prin această metodă s-a separat a cincea fracţiune lipoproteică IDL (intermediate density lipoprotein).

Dozarea lipidelor prin metoda imunologică se bazează pe recunoaşterea selectivă a unui antigen de către anticorpul său, dând reacţia de precipitare antigen-anticorp. Concentraţia lipidelor se dozează prin metoda clasică a imunoturbidimetriei şi imunonefelometriei care au ca principiu difuzia luminii într-o soluţie tulbure obţinută în urma reacţiei de precipitare antigen-anticorp.

Corpii cetonici

Trigliceridele din ţesutul adipos sunt sursa importantă de energie pentru organism, pe termen lung. În trigliceride este înmagazinată mai multă energie decât în glicogen. Utilizarea crescută a grăsimilor din depozit ca în cazul unui post prelungit (cu deficit absolut de glucoză) sau în diabetul zaharat (cu deficit relativ de glucoză) este

însoțită de cetocetoză. Deficitul de glucoză perturbă procesul de sinteză a trigliceridelor în țesutul adipos (lipogeneză) şi hidroliza acestora (lipoliza) cu punerea în circulație a cantităților mari de acizi graşi liberi.

Creşterea oxidării de acizi graşi se însoțeşte de formarea de cantități sporite de acid acetoacetic şi beta-hidroxibutiric, iar prin decarboxilarea acidului acetoacetic rezultă acetona. Aceste trei substanțe poartă denumirea colectivă de corpi cetonici (*Fig. 7*).

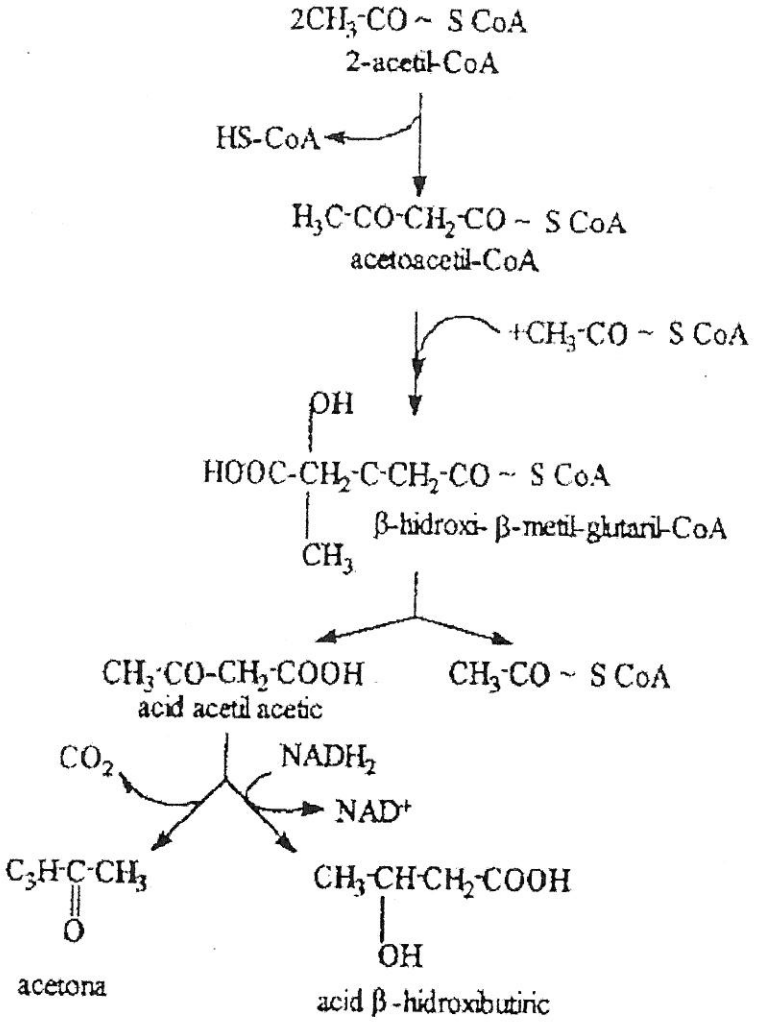


Fig. 7 - Formarea corpilor cetonici

Formarea de corpi cetonici are loc în urma beta-oxidării acizilor graşi la nivelul sistemelor enzimatice intramitocondriale din ficat. Acidul acetoacetic desfăcut din legătura sa cu coenzima-A în ficat, nu mai poate fi transformat în acetoacetil-CoA şi trece în circulaţie. Ţesuturile periferice extrahepatice pot însă prelua corpii cetonici din sânge, graţie unei enzime care trasferă radicalul CoA de la nivelul acidului succinic la nivelul acidului acetoacetic. În acest fel, în anumite limite, formarea de corpi cetonici constituie o sursă de energie pentru ţesuturile extrahepatice; în caz de inaniţie prelungită chiar şi celulele nervoase ajung să consume corpi cetonici, care sunt hidrosolubili şi pot străbate bariera hemato-encefalică.

Cetocetoza diabetică este de obicei mai severă decât cetocetoza din inaniţie. Indiferent de concentraţia glucozei în plasmă, producţia de corpi cetonici, în ambele cazuri, este dată de deficitul intracelular de glucoză şi de activitatea scăzută a insulinei.

Concentraţia normală în sânge a corpilor cetonici nu depăşeşte 1 mg/100 mL iar pierderile urinare sunt, de regulă, sub 1 mg/zi. Creşterea de corpi cetonici în sânge şi urină realizează *cetonemia* şi *cetonuria*, iar starea patologică la care se ajunge poartă denumirea de *acidocetoză.*

Creşterea formării de corpi cetonici poate fi observată în următoarele situaţii:

- inaniţie, începând din ziua a doua sau a treia;
- dieta excesiv de bogată în grăsimi;
- diabet zaharat sever;
- diabet renal sever;
- toxicoză gravidică;
- hipertiroidism;
- acromegalie sau boala Cushing.

Toate aceste condiţii sunt caracterizate printr-o utilizare redusă a glucozei şi un catabolism exagerat al acizilor graşi.

Determinarea în laborator se efectuează cu nitroprusiat de sodiu în mediu puternic amoniacal când se obţine o colorație violetă.

Substanţe organice azotate neproteice

Azotul neproteic

În categoria substanţelor azotate neproteice sunt cuprinse: ureea (50% din total), acidul uric, creatina, creatinina, aminoacizii,

bilirubina, amoniacul, nucleotide, purine. În majoritate ele reprezintă produşi intermediari sau finali ai proceselor metabolice.

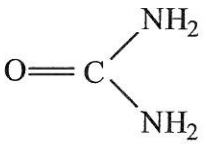
Determinarea azotului neproteic se face în filtratul obținut prin deproteinizarea serului sau plasmei, prin kjeldalizare sau colorimetric. Deproteinizarea se efectuează cu: acid tricloracetic, acid percloric, acid fosfotungstic, acid sulfosalicilic etc.

Diferența dintre azotul neproteic plasmatic şi azotul ureic reprezintă azotul restant (rezidual).

Concentrația azotului neproteic variază între 25 - 35 mg/100 mL. El este crescut în insuficiența renală şi azotemiile extrarenale, când concentrația sa variază cu gravitatea leziunii renale.

Ureea

Ureea este produsul final al metabolismului proteic.



Biosinteza ureei are loc aproape exclusiv în ficat, unde din amoniacul provenit din dezaminarea aminoacizilor, din CO_2, în prezența ATP-ului şi a ionilor de Mg^{2+} se formează carbamil fosfatul care intră în ciclul de biosinteză al ureei, ciclul lui Krebs-Henseleit *(Fig. 8)* şi reprezintă unul din principalele mecanisme de detoxifiere a amoniacului.

Valorile normale ale ureei sunt cuprinse între 20 - 40 mg/100 mL. Această concentrație se menține constantă datorită echilibrului dintre funcția ficatului care o sintetizează şi aceea a rinichiului care o excretă.

Scăderi ale acestor valori se întâlnesc în tulburări hepatice cum sunt atrofia galbenă a ficatului, necroza hepatică, coma hepatică (când nu se poate sintetiza).

Creşteri ale valorii ureei se produc în insuficiența renală, degradare excesivă de proteine, tumori, iradieri, tratament cu citostatice, tetracicline, corticosteroizi, aport excesiv de proteine alimentare.

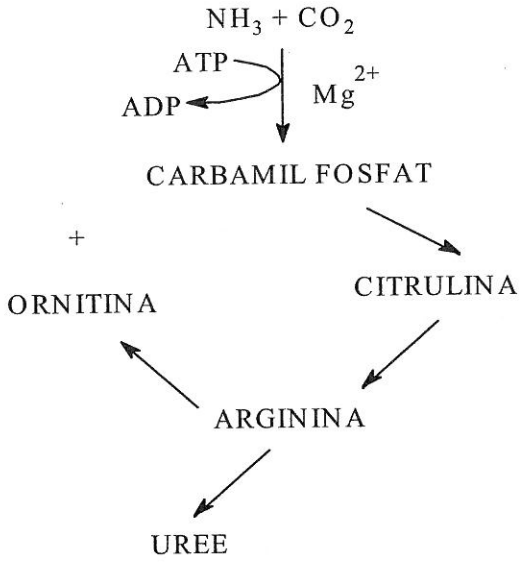


Fig. 8 - Ciclul ureei

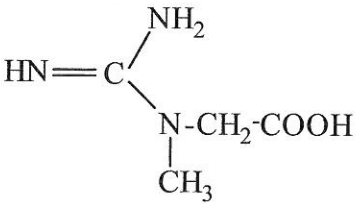
În insuficiența renală acută (IRA) creşterea rapidă a ureei (peste 100 mg%) şi a creatininei plasmatice (peste 2 mg%) este constantă. Ansamblul manifestărilor toxice ce însoțesc retenția în organism, în special în sânge, a produşilor azotați care, în mod normal sunt eliminați prin urină, poartă numele de **uremie**. Afecțiunea survine cel mai des în insuficiența renală gravă. *Manifestările clinice* sunt variate, în funcție de gravitatea retenției azotate, şi anume: apatie, somnolență, cefalee, anorexie, oligurie, grețuri, diaree, vomă, comă.

Determinări de laborator

- Reacția enzimatică se bazează pe descompunerea ureei cu urează în CO_2 şi NH_3, urmată de reacția de culoare albastră (indofenol) cu hipoclorit-fenol sau reacția Nessler (culoare galben-cărămizie).
- Colorimetric se dozează cu diacetilmonoximă când se obține o culoare galbenă, colorimetrabilă.
- Dozarea enzimatică cu urează şi măsurarea variației conductivității produse de eliberarea NH_4^+ cu ajutorul electrozilor selectivi (analizatorul ASTRA – Beckman).

Creatina şi creatinina

Creatina sau acidul metilguanidilacetic este un compus care se găseşte mai des în musculatură şi în creier, atât sub formă liberă, cât şi sub formă fosforilată (fosfocreatină sau fosfagen).



Sinteza de creatină se realizează în organism pe seama a trei aminoacizi: arginina, ca donator al grupării amidice, metionina, ca donator de radical metil şi glicocolul, la care se fixează cele două grupări amintite.

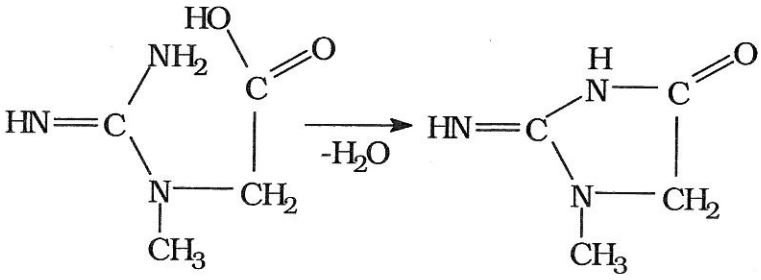
Într-o primă etapă, la nivelul rinichiului are loc formarea acidului guanidilacetic, urmată de metilarea lui la nivelul ficatului cu ajutorul metioninei.

Glicocol + arginină ⟶ glicociamina (acid guanidilacetic)

Glicociamina —metionina⟶ CREATINA

Creatina trecută în sânge este captată cu promptitudine la nivelul musculaturii unde este fosforilată spre a forma fosfocreatină şi sub această formă are un rol important în stocarea energiei.

Creatinina este anhidrida creatinei şi reprezintă forma sa de eliminare.



creatina creatinina

În timp ce nivelul plasmatic al creatinei este 0,2 - 0,6 mg/100 mL, nivelul creatininei ajunge la 0,6 - 1,1 mg/100 mL, iar eliminarea pe cale urinară este cuprinsă între 1,5 - 2,5 g/24 ore. Creatina nu se elimină prin urina bărbaților, ea fiind prezentă uneori în urina copiilor şi în urina unor femei.

Creşterea creatinei în sânge şi eliminarea prin urină a acestui compus se poate întâlni în: distrugerea celulelor musculare, o disproporție între producția de creatinină în ficat şi masa musculară diminuată care nu mai poate capta creatina produsă, ceea ce duce la creatinurie crescută în miastenia gravis, poliomielită. În insuficiența renală acută creşterea ureei sanguine este însoțită de creşterea creatininei. Creşterea creatininei în sânge este un indicator fidel şi mai precoce al limitării funcției renale decât nivelul ureei.

Determinarea creatininei se efectuează colorimetric cu ajutorul acidului picric când acesta este redus la acid picramic (metoda Jaffé). Creatina încălzită timp îndelungat cu HCl trece în creatinină, fapt ce permite dozarea concomitentă a acestora.

Determinându-se pe de o parte creatinina, iar pe de altă parte creatina + creatinina se poate calcula prin diferență creatinemia.

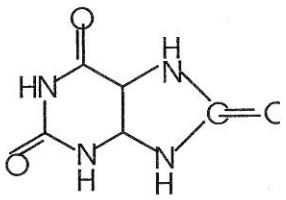
În laboratorul clinic se determină uneori indicele creatinic a cărui valoare este dată de raportul creatină/creatinină+creatină = 0,5. Valoarea acestui indice poate scădea în unele forme de pielonefrită, sindrom parkinsonian.

Determinarea enzimatică a creatininei are ca principiu măsurarea cinetică a descreşterii NADH la 340-360 nm care este proporțională cu cantitatea de creatinină prezentă inițial.

Determinarea prin „chimia uscată" cu ajutorul spectro-reflectometrului Kodak „Ektachen" şi „Reflotron" Boehringer. Placa conține o serie de straturi în scopul realizării unei cascade de reacții enzimatice. Viteza reacției este proporțională cu concentrația creatininei prezente în ser.

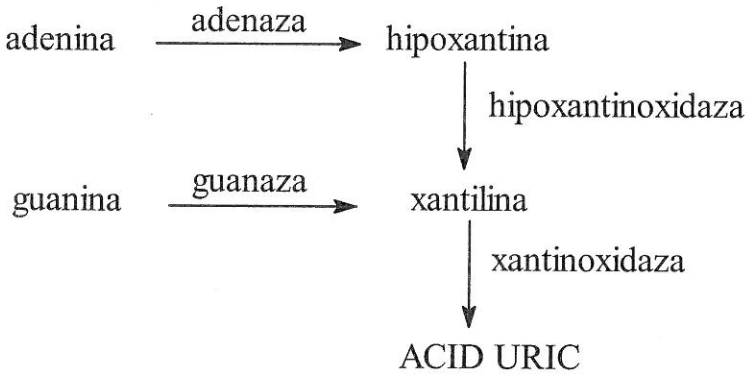
Acidul uric

Acidul uric este de proveniență atât endogenă cât şi exogenă. El este produsul final al catabolismului purinic.



Sinteza acidului uric are loc la nivelul ficatului, iar eliminarea mai ales pe cale renală prin procese de filtrare-reabsorbție şi secreție tubulară.

În funcție de sinteză, absorbție şi eliminare, se realizează un rezervor de acid uric în organism, o parte din acesta circulând în sânge şi determinând uricemia.



Valorile normale serice sunt cuprinse între 3 - 5 mg/100 mL. În general ele sunt în funcție de sex şi vârstă (2,6 mg/100 mL la femei şi 3,5-7 mg/100 mL la bărbați). La copii între 1 - 3 mg/100 mL ser.

Cea mai mare parte a acidului uric circulă în sânge sub formă de urat de sodiu (99%) iar restul ca acid uric liber. Plasma conține o glicoproteină care leagă uraţii ducând la creşterea solubilității acestora.

Anomalii ale metabolismului purinic

Hiperuricemiile

Când valorile uricemiei depăşesc 7 mg/100 mL se consideră că este vorba de hiperuricemie, care pot fi însoțite sau nu de manifestări clinice de gută. Se consideră totuşi că orice valoare de peste 7 mg/100 mL trebuie tratată.

Un aport alimentar crescut în purine, în mod normal, nu duce la hiperuricemii, deoarece o funcție renală bună asigură eliminarea aproape nelimitată a unui aport crescut. În funcție de mecanismul lor de producere, hiperuricemiile pot fi împărțite în: hiperuricemii primare şi secundare.

Hiperuricemii primare. În această categorie se încadrează guta şi hiperuricemiile de natură enzimopatică, de obicei ereditare.

Guta se produce prin creşterea sintezei de acid uric cu scăderea capacității de legare a uraţilor de proteinele plasmatice şi cu scăderea eliminării urinare. Ca urmare va avea loc depunerea cristalelor

de acid uric şi urați, sub formă de tofi, la nivelul articulațiilor, a unor țesuturi şi rinichi. Litiaza urică survine la aproape 20% din cazurile de gută.

Criza gutoasă acută este datorată iritației mecanice locale produse de prezența cristalelor de acid uric şi urați, la care se asociază factorul inflamator. La baza producerii reacției inflamatorii stă leucocitul. Deşi cristalele de urați sunt iritante, pentru producerea unei reacții inflamatorii accentuate este nevoie ca aceste cristale să fie fagocitate de către leucocitele polimorfonucleare neutrofile (granulocite). Din acest moment leucocitele eliberează enzime lizozomale în lichidul sinovial, care produc reacții inflamatorii la acest nivel. În acelaşi timp, se stie că cristalele de acid uric produc o activare a factorului XII al coagulării, prezent în lichidul sinovial. Acesta, la rândul lui, duce la activarea sistemului kalicreină-kinine (mediator important al reacției inflamatorii). Concomitent sunt eliberate din sistemul complementului şi factori chemotactici, care atrag leucocitele; acestea fagocitează din nou cristalele de acid uric şi ciclul se reproduce într-un cerc vicios.

Hiperuricemia se asociază frecvent cu obezitatea, diabetul zaharat şi hipertrigliceridemia.

Manifestările clinice în gută

Atacul de gută poate fi precedat de *semne subiective* generale: inapetență, grețuri, insomnie, stare generală modificată. *Semnele clinice obiective* apar în plină sănătate ca o durere foarte puternică care creşte progresiv în intensitate, în câteva ore. Atacul acut de gută apare în 75% din cazuri la prima articulație metatarsofalangiană a piciorului (haluce). Durerile sunt atroce, regiunea se colorează în roşu-violaceu, devine lucioasă şi tumefiată. Dacă nu se face tratament, atacul de gută durează câteva zile. Pot fi interesate şi alte articulații cum sunt: gleznă, genunchi, coate, pumni. Atacul de gută poate fi însoțit şi de febră, frisoane, facies congestionat. Aproximativ 60% dintre bolnavi fac o nouă criză acută în intervalul unui an şi cam în 25% din cazuri în primii doi ani. Crizele pot fi declanşate de: traumatisme, stress, supraalimentație, ingestii crescute de alcool. *Guta cronică*. Perioadele asimptomatice între crizele acute se scurtează, apar tofii gutoşi, artralgii şi rigiditate articulară. La 25% din cazurile de gută apare *litiaza renală*. Aproximativ la 20% din cazuri apare nefropatia gutoasă cu albuminurie sau cu modificări ale hemodinamicii renale.

Date de laborator

- Examenele sanguine evidențează *hiperuricemie* (peste 7 mg/100 mL), dar la aproximativ 10% din bolnavi după primul atac nivelul acidului uric poate fi normal;

- Atacul de gută este însoțit de leucocitoză şi creşterea VSH-ului;
- *Examenul de urină* evidențează cristale de acid uric şi frecvent albuminurie redusă;
- *Examenul lichidului sinovial.* Acesta are o culoare uşor gălbuie, lăptos, tulbure, cu viscozitate scăzută, cu un număr mai mare de 50.000/mm^3 de leucocite, din care 60-70% polimorfonucleare. La microscop se pot observa cristale uratice în grămezi asemănătoare cu o „legătură de vreascuri".

Hiperuricemiile secundare se produc prin hiperproducție de acid uric sau/şi eliminarea deficitară a acestuia, drept consecință a existenței unor stări patologice cunoscute, cum sunt: leucoze, policitemie, cură de slăbire, limfogranulomatoză etc. Atât leucemiile cronice cât şi cele acute pot produce hiperuricemie, mai ales în timpul terapiei aplicate (distrugere celulară crescută). Hiperuricemia se mai constată în mielomul multiplu, boala Hodgkin, mononucleoza infecțioasă, probabil prin creşterea metabolismului purinic din leucocitele anormale.

Cercetările au demonstrat că diabetul zaharat împreună cu acidoza generează frecvent hiperuricemie. Aceasta se datoreşte inhibării secreției tubulare renale a uraților de către corpii cetonici prezenți în sânge.

Postul se asociază cu reducerea excreției urinare a acidului uric şi cu hiperuricemie.

Introducerea postului prelungit în tratamentul obezității a dovedit că nivelul acidului uric din plasmă creşte, fără să conducă la atac de gută.

Mecanismul fiziopatologic de reducere a excreției renale a acidului uric şi ridicarea nivelului seric al acestuia la indivizii supuşi postului sau la cei cu o dietă bogată în grăsimi este datorat prezenței corpilor cetonici care inhibă excreția de acid uric.

Hiperuricemia întâlnită în psoriazis şi în special în psoriazisul întins, urmată de determinări articulare gutoase este relativ frecventă. Mecanismul patogenic al hiperuricemiei în psoriazis ar fi rezultatul unui proces hipercatabolic al nucleilor celulari, datorat unei reînoiri rapide a celulelor epidermice la nivelul leziunilor cutanate.

Efortul muscular intens poate genera o hiperuricemie trecătoare datorită reducerii eliminării acidului uric de către hiperlactacidemia care survine în aceste situații.

Consumul de alcool de către indivizi normali produce creşterea nivelului acidului uric plasmatic, iar la gutoşi creşterea este mult mai mare conducând la atacul de gută.

Alcoolul poate contribui în mod cert la creşterea uricemiei, deorece dehidrogenaza care îl oxidează reduce NAD-ul ceea ce are ca rezultat sinteza unor cantităţi crescute de acid lactic din acid piruvic, iar excesul de acid lactic diminuă eliminările renale de acid uric.

O mare parte a hiperuricemiilor secundare este dată de tulburări ale excreţiei renale de acid uric. Astfel de tulburări apar în toate insuficienţele renale cronice (glomerulonefrita cronică, scleroza renală etc.).

O altă categorie de hiperuricemii renale sunt acelea date de o inhibiţie a secreţiei tubulare a acidului uric, fără leziune propriu-zisă renală.

Hipouricemiile

Scăderea uricemiei sub limita inferioară a valorilor normale (2,5 mg/100 mL) este mult mai rar întâlnită ca hiperuricemiile şi este dată de diferite condiţii patologice. Hipouricemia poate surveni atât în boli ale unor organe, cât şi în urma administrării unor medicamente, sau poate fi consecinţa unor defecte enzimatice generale sau renale.

Întrucât acidul uric este sintetizat în special în ficat, se poate presupune că în afecţiunile parenchimatoase hepatice grave, nivelul uricemiei scade.

În xantinuria ereditară, hipouricemia se datoreşte deficitului enzimatic de xantinoxidază.

Hipouricemia se mai întâlneşte în boala Wilson (degenerescenţa hepatolenticulară) ca urmare a creşterii clearance-ului renal pentru acidul uric, consecutivă alterării tubilor renali care în acestă situaţie nu mai pot reabsorbi eficient acidul uric.

Determinarea în laborator a acidului uric se efectuează colorimetric, bazat pe reducerea acidului fosfowolframic de către acidul uric, obţinându-se o coloraţie albastră, colorimetrabilă.

- Metoda enzimatică cu uricază are la bază oxidarea unui cromogen de către H_2O_2 formată în urma reacţiei enzimatice.
- Metoda spectrofotometrică determină extincţia înainte şi după acţiunea uricazei la 293 nm. Acidul uric prezintă o bandă de absorbţie maximă la această lungime de undă.
- Determinarea prin spectroreflectometrie utilizează aparatul „Ektachem Kodak" sau „Reflotron Boehringer" care dozează direct valoarea acidului uric. Determinarea are la bază reacţia de culoare a unui cromogen sub influenţa H_2O_2 eliberată în timpul reacţiei enzimatice cu uricază.

Amoniacul şi aminoacizii

Amoniacul plasmatic provine din degradarea componentelor azotate: proteine, baze purinice, pirimidinice, aminoacizi. Liber în plasmă el se găseşte în concentraţii foarte mici 29 µmoli/L. Amoniacul fiind toxic pentru organism, pe măsură ce se formează se combină cu CO_2 sub acţiunea ionilor de Mg şi ATP şi se transformă în carbamilfosfat care intră în ciclul ureei. O altă parte se combină cu acidul glutamic formând glutamina care la nivelul rinichiului se hidrolizează punând în libertate amoniac care se elimină prin rinichi sub formă de săruri de amoniu, în cantitate de aproximativ 0,6 g/24 ore. Deci, în mod normal, organismul pe măsura formării amoniacului caută să-l îndepărteze din organism, acesta fiind toxic, în special pentru celula nervoasă.

- *Patologic*, creşterea amonemiei poate semnifica o *anomalie congenitală datorită afectării enzimelor implicate în ciclul ureogenezei.*Deficitul congenital de carbamil-fosfat sintetază şi ornitin-carbamil transferază este cel mai sever, adesea conducând la decesul nou-născuţilor.
- La adulţi hiperamonemia se întâlneşte în *ciroză*, în stadiile terminale, prin suprimarea funcţiei de detoxifiere a ficatului cât şi datorită dezvoltării unei circulaţii colaterale prin care sângele portal ocoleşte ficatul.
- În *coma hepatică* datorită incapacităţii de detoxifiere a ficatului creşte concentraţia de amoniac în sânge şi în creier.
- În *dezaminările bacteriene intense* ale acizilor aminaţi.
- În hemoragiile digestive (ca de exemplu varicele esofagiene), hemoglobina producând cantităţi mari de amoniac.

Manifestările clinice ale intoxicaţiei cu amoniac constau în tremurături, vedere difuză, vorbire incoerentă, iar în cazuri severe, comă şi moarte.

Determinări de laborator

Se fac prin metoda colorimetrică clasică Berthelot, în care amoniacul, în mediu alcalin, dezvoltă o culoare albastră în prezenţa fenolului şi a hipocloritului de Na.

- Metoda enzimatică utilizează glutamat dehidrogenaza în care NH_3, în prezenţa NADH şi a H^+ transformă α-cetoglutaratul în glutamat. Descreşterea densităţii optice la 340 nm legată de dispariţia NADH este proporţională cu cantitatea de amoniac prezentă.
- Prin reflectometrie cu ajutorul „chimiei uscate" utilizând aparatul Kodak Ektachem a cărui principiu constă în difuzia NH_3 printr-un film de polypropilen într-un strat conţinând un colorant (albastru de

bromcrezol sau albastru de bromfenol) producând o colorație proporțională cu cantitatea de amoniac plasmatic.

Aminoacizii se găsesc în sângele total în concentrații cuprinse între 5 - 8 mg/100 mL.

Concentrații crescute ale aminoacizilor în sânge se întâlnesc în afecțiuni acute ale parenchimului hepatic, icter, ciroze, leucemii, nefrite, intoxicații cu arsen, fosfor.

Variațiile patologice ale acestora țin, în mare măsură, de erorile înnăscute ale metabolismului, încadrându-se în sindroame de mare severitate, asociate de cele mai multe ori cu debilitate mintală. Hiperacidemiile se produc prin inhibiția sistemului de transport tubular sau deficit enzimatic strict localizat. În aminoaciduriile prin defect tubular, nu se schimbă nivelul plasmatic al aminoacizilor (vezi urină).

Determinarea lor în laboratorul clinic se efectuează prin metoda Sörensen sau metode fotocolorimetrice, în care ca reactiv de culoare se utilizează beta-neftochinonsulfonatul de sodiu.

- Aminoacizii se mai pot determina şi prin cromatografie pe hârtie sau în strat subțire, folosind ca revelatori ninhidrina (culoare violet), izatina (albastră) etc. sau cromatografie pe schimbători de ioni.

Bilirubina

În condiții normale din cantitatea totală de bilirubină formată zilnic aproximativ 250 mg provine din hemul eritrocitar eliberat din hemoglobina eritrocitelor îmbătrânite, distruse la nivelul sistemului reticulohistiocitar. Restul de 10 - 15% din bilirubină provine din hemul neeritrocitar, dar eritropoetic, prin distrugerea globulelor roşii în măduva osoasă ("eritropoeză ineficientă") şi din hemul neeritrocitar al hemului tisular liber şi hemoproteinelor (mioglobină, citocromi), la nivelul ficatului.

Rezultă că aproximativ 90% din bilirubină ia naştere din hemoglobină care dezintegrată la nivelul sistemului reticulo-histiocitar (splină, ficat, ganglioni limfatici), pierde partea proteică (globina, care va fi conservată prin intrarea sa în fondul proteic) şi fierul (care va fi reutilizat pentru nevoile organismului). (*Fig. 9*).

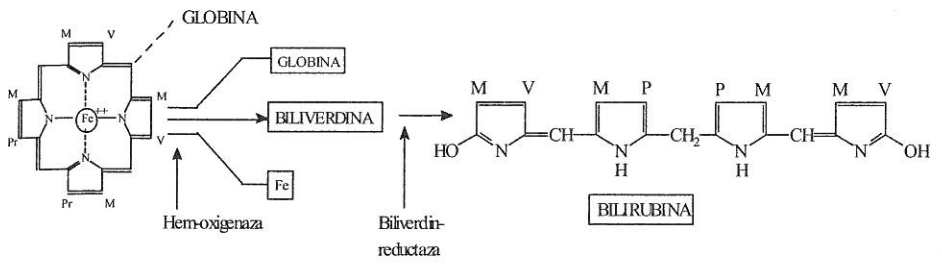


Fig. 9 - Sinteza bilirubinei

Pe plan biochimic, fenomenul esențial al formării bilirubinei constă în deschiderea nucleului tetrapirolic porfirinic şi transformarea lui într-un lanț deschis, liniar, cu fixarea a câte un atom de oxigen la cei doi piroli exteriori. Bilirubina astfel formată se numeşte **bilirubină indirectă** (dă reacția Hijmans Van den Bergh indirect) sau liberă. Ea este transportată legată de albumina plasmatică şi este neconjugată cu acid glucuronic, de aceea se mai numeşte şi bilirubină neconjugată. Ea este insolubilă în apă şi deci nu poate fi eliminată prin rinichi. Bilirubina liberă este o bilirubină prehepatică, ea nu a ajuns în celula hepatică.

Investigațiile biochimice prin tehnologia uscată cu SLIDE-uri au pus în evidență prezența bilirubinei delta.

Bilirubina delta

În anul 1966, Kunzle şi colaboratorii, utilizând cromatografia pe coloană pentru serurile icterice, au decelat o nouă fracțiune pe care au denumit-o DELTA. Abia în anul 1982 ea a fost reconsiderată de către Lauf, fiind identificată prin HPLC.

Bilirubina delta este o fracțiune conjugată care face parte din bilirubina directă. Ea este legată covalent de albumină şi rămâne mai mult timp crescută în plasmă, în cazul unor hepatopatii, chiar şi atunci când valoarea bilirubinei totale este normală şi nivelul enzimelor hepatice este normal.

Bilirubina delta actualmente poate fi identificată prin tehnologia uscată cu SLIDE-uri multistratificate, cu ajtorul analizorului VITROS 750 X RC.

Deoarece ea rămâne crescută în plasmă timp mai îndelungat decât bilirubina conjugată, poate fi considerată ca un *marker în hepatopatii.*

Transportul bilirubinei

Odată eliberată în plasmă, aproape întreaga cantitate de bilirubină liberă, neconjugată, circulă legată de albumină; un gram de albumină fixează 16 mg de bilirubină. De asemenea, alfa-globulinele pot fixa bilirubina neconjugată.

Metabolismul hepatic al bilirubinei

Ficatul ocupă locul major în metabolismul bilirubinei, la nivelul lui având loc trei etape distincte: preluarea, conjugarea şi excreția.

a. *Preluarea.* Bilirubina neconjugată, legată de albumină, la nivelul celulei hepatice se disociază în bilirubină şi albumină, etapă care se desfăşoară foarte rapid (1 - 2 minute).

b. *Conjugarea.* Bilirubina neconjugată fiind insolubilă în apă nu poate fi excretată în bilă decât după transformarea ei în bilirubină conjugată, solubilă în apă, **bilirubină directă** (care dă reacția Van den Bergh direct). Conjugarea bilirubinei cu acidul glucuronic are loc în microzomii din reticulul endoplasmatic al celulei hepatice sub acțiunea enzimei glucuronil-transferază, obținându-se glucuronatul de bilirubină (mai exact diglucuronat).

c. *Excreția* bilirubinei conjugate în bilă este un proces activ, puțin cunoscut. Se pare că organitele intracelulare implicate în acest proces sunt reticulul endoplasmic, aparatul Golgi şi lizozomii care dirijează bilirubina conjugată către polul biliar al hepatocitului de unde este excretată printr-un proces activ, în canaliculele biliare, de unde urmează calea de eliminare obişnuită a bilei şi ajunge în duoden.

Faza intestinală a metabolismului bilirubinei

Bilirubina conjugată ajunsă în intestin este transformată sub acțiunea enzimatică a bacteriilor în urobilinogen care apoi urmează următoarele căi:

- cea mai mare parte se elimină prin fecale sub formă de stercobilinogen, iar acesta, în contact cu aerul se tranformă în stercobilină (40 - 280 mg/zi);
- o mică parte este reabsorbit în intestinul subțire şi prin sistemul port şi se întoarce la ficat de unde este eliminat din nou în bilă sub formă de bilirubină (ciclul enterohepatic);
- o parte din urobilinogenul absorbit în intestinul subțire ajunge în circulația generală şi este eliminat prin rinichi.Cantitatea normală de urobilinogen eliminat pe cale renală este sub 4 mg/100 mL. *(Fig. 10).*

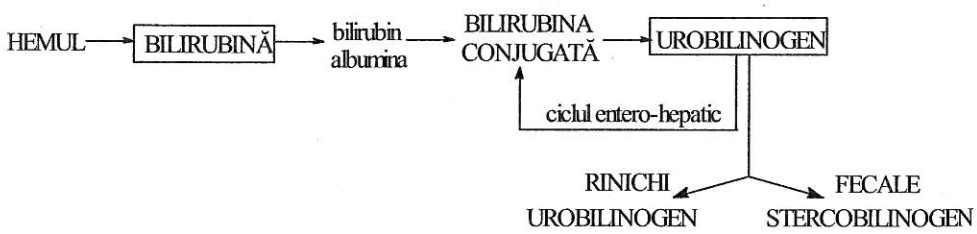


Fig. 10 - Transformările hemoglobinei în organism

Concentrația normală a bilirubinei totale serice este cuprinsă între 0,2-0,8 mg/100 mL. Nu se cunosc scăderi marcate sub limita inferioară. Creşterea bilirubinei totale peste valorile normale (peste 1 mg/100 mL) face ca aceasta să treacă din sânge în țesuturi şi să producă colorarea anormală a tegumentelor şi mucoaselor, denumită **sindrom icteric**.

Cauzele ce duc la instalarea sindromului icteric sunt:

- creşterea producției de bilirubină cauzată de o hemoliză puternică;
- scăderea capacității de captare a bilirubinei neconjugate de către ficat
- deficit în procesul de glicuronoconjugare;
- perturbarea mecanismului eliminării bilirubinei conjugate prin căile biliare intrahepatice;
- obstrucția totală sau parțială a căilor biliare extrahepatice.

Când intervin primele trei mecanisme, în sânge se va acumula bilirubina neconjugată, indirectă (B.I.). Ultimele două mecanisme duc la acumularea de bilirubină conjugată, directă. (B.D.)

Aceşti factori pot acționa uneori simultan, ca de exemplu în hepatita virală când se asociază defectele de captare, conjugare şi excreție, sau în icterul hepatocelular când apare şi o hemoliză.

S-a constatat că bilirubina conjugată produce un icter mai intens decât bilirubina neconjugată, aceasta probabil pentru că B.D. este hidrosolubilă şi pătrunde mai uşor în lichidul interstițial. În cazul unui icter mecanic intens fluidele oculare se colorează apărând xantopsia (vedere galbenă).

În icterele foarte intense şi prelungite, în caz de obstrucție totală a canalului coledoc datorită unui proces malign, tegumentele se pot colora în verzui datorită oxidării bilirubinei în biliverdină.

Diferențierea diverselor tipuri de icter

O clasificare larg acceptată este aceea în care se stabileşte sediul procesului patogenic: icter prehepatic, hepatic şi posthepatic corespunzând icterului hemolitic, hepatocelular şi mecanic, cu precizarea nivelului la care intervin factorii etiopatogenici în metabolismul bilirubinei, de la sinteza ei până la eliminare.

1. Icterele hemolitice

În icterul hemolitic creşte bilirubina neconjugată (B.I.) deoarece hemoliza patologic mărită, pune în libertate cantităţi mari de bilirubină ce depăşesc capacitatea de conjugare a ficatului.

Degradarea exagerată a hemului poate surveni în urma unei hemolize exagerate a hematiilor existente în circulaţie sau datorită unei hemolize intramedulare, ca în cazul anemiilor Biermer.

Hemoliza exagerată a hematiilor din circulaţie, asociată cu o splenomegalie se întâlnesc în *anemiile hemolitice.* Aceste anemii pot avea un caracter congenital, genetic sau pot fi câştigate.

- anemiile hemolitice congenitale survin în incompatibilităţi de Rh (eritroblastoza fetală)

- anemiile hemolitice genetice sunt datorate unor defecte moştenite ale eritrocitelor, cum sunt sferocitoza ereditară sau maladii genetice ale hemoglobinei (talasemiile).

- anemiile hemolitice câştigate pot fi datorate unor factori infecţioşi şi parazitari (de exemplu în paludism, hemolizinele streptococului β hemolitic), sau a unor factori toxici ca metale grele, venin de şerpi, fenilhidrazină, cloroform, tetraclorură de carbon.

- hemolizele pot fi cauzate şi printr-un proces de autoimunizare produs în cadrul transfuziilor de sânge incompatibile care pot cauza hemolize foarte puternice.

- cazul cel mai frecvent cu bilirubină neconjugată crescută se întâlneşte în „icterul neonatal" sau „icterul fiziologic".

La adultul normal, la care durata de viaţă a eritrocitelor este de aproximativ 120 zile, se distrug zilnic aproximativ 200 miliarde globule roşii, ceea ce implică degradarea unei cantităţi de aproximativ 6 g hemoglobină şi producerea de 200 - 250 mg bilirubină. În hemolizele patologice, cantitatea de hemoglobină degradată poate ajunge la valori de 20 g/zi. Această cantitate excesivă de bilirubină neconjugată ajunsă la ficat este în cea mai mare parte conjugată şi excretată de celulele hepatice care vor conjuga la maximum posibilităţilor lor. Aşa se explică faptul că deşi producţia de bilirubină poate ajunge în stări hemolitice la valori de 1500 mg/zi (aproximativ de 6 ori cantitatea normală), nivelul bilirubinemiei nu depăşeşte decât rareori 2 - 3 mg/100 mL. Din acest motiv, creşteri ale bilirubinemiei indirecte la valori peste 5 mg/100 mL, la un bolnav cu icter hemolitic, sugerează intervenţia şi a unei disfuncţii hepatice. Aşa de exemplu, icterul nou-născuţilor, în care se ajunge la hiperbilirubinemii importante, nu poate fi explicat doar prin hemoliză ci şi printr-o imaturitate a proceselor implicate în excreţia pigmenţilor biliari. Întrucât icterul hemolitic se caracterizează prin creşterea bilirubinei indirecte (neconjugate), urina va fi lipsită de pigmenţi biliari. În schimb,

eliminarea excesivă de bilirubină în intestin se va însoți de producerea unor mari cantități de stercobilinogen şi respectiv stercobilină, astfel încât materiile fecale devin hipercolorate, iar urobilinogenul urinar creşte.

Icterele hemolitice se însoțesc şi de alte modificări legate de mecanismele patologice care intervin în producerea hemolizei, cum sunt:

- creşterea sideremiei datorată eliberării fierului rezultat din catabolismul hemului şi a unei absorbții intestinale crescute de fier stimulată de anemia produsă;
- creşterea activității transaminazelor serice şi a activității lacticodehidrogenazei (LDH). Icterele hemolitice de durată pot duce la precipitarea de pigmenți biliari şi la formarea de calculi de bilirubinat de calciu.

2. Icterele hepatocelulare

În icterele hepatocelulare au loc lezarea reversibilă sau ireversibilă a parenchimului hepatic, ceea ce determină o creştere atât a bilirubinei conjugate (B.D.) cât şi a bilirubinei neconjugate (B.I.).

Sindromul icteric poate apare în variate suferințe hepatocelulare, cum ar fi hepatita virală acută, puseele evolutive ale unei hepatite cronice, hepatopatiile alcoolice şi cirozele hepatice. În majoritatea cazurilor, apariția icterului indică o alterare a funcției hepatocitelor. Disfuncția hepatică se repercută asupra captării, glicuronoconjugării şi excreției bilirubinei. Ca urmare a necrozei apar unele comunicări între canalele biliare şi canalele sanguine. Aşa se explică creşterea atât a bilirubinei libere cât şi a celei conjugate în sânge. Bilirubina conjugată trece în urină, colorând-o.

3. Icterul obstructiv (mecanic) se caracterizează prin faptul că bilirubina directă (B.D.) este intens pozitivă deoarece conjugarea hepatică se face normal, dar eliminarea intestinală este împiedicată prin obstrucția mecanică a căilor biliare şi în acest caz bilirubina conjugată este revărsată în sânge (de unde ajunge în urină, ea fiind solubilă) în timp ce valoarea urobilinogenului în urină este normală.

Termenul de colestază indică o perturbare a proceselor prin care bila ajunge în duoden. Aceasta înseamnă că pe lângă obstrucțiile extrahepatice care împiedică vărsarea bilei în duoden, mai pot exista şi cauze intrahepatice. Deci termenul de colestază este mai indicat decât cel mecanic.

În icterul colestatic reacția diazodirectă este pozitivă. Dar în caz de obstrucție totală a fluxului biliar, bilirubina nu ajunge în intestin, deci nu se va forma stercobilinogen şi respectiv stercobilină, ca urmare materiile fecale sunt decolorate. În urină este absent urobilinogenul. Caracteristic în icterele colestatice este creşterea marcată a fosfatazei alcaline şi a γ glutamil transferazei.

Valori normale ale bilirubinei totale: 0,2 - 0,8 mg/100 mL. Bilirubina conjugată (B.D.): 0,1 - 0,2 mg/100 mL. Bilirubina liberă (B.I.): 0,1 - 0,6 mg/100 mL ser.

Particularități ale metabolismului bilirubinei la nou-născut

Bilirubina liberă (neconjugată), formată în sistemul reticulo-endotelial, se elimină din organismul fetal prin transfer placentar de la făt la mamă. Acest proces este favorizat de concentrația relativ mai scăzută a albuminelor serice în organismul fetal. Ca urmare, bilirubina tinde să treacă în circulația maternă mai bogată în albumine serice capabile să o fixeze şi să o transporte. Transferul placentar de bilirubină are o deosebită importanță, deoarece la făt mecanismele hepatice de îndepărtare a pigmenților biliari sunt inadecvate. Lipsa de maturare a acestor mecanisme implică, pe lângă deficitul de proteine acceptoare de bilirubină şi un deficit în procesul de formare al uridindifosfat-acidului glicuronic şi o activitate diminuată a *glicuronil tranferazei.* Aceste deficiențe, asociate cu o exacerbare a hemolizei coincizând cu naşterea, sunt în măsură să explice *„icterul fiziologic"*al nou-născutului, la care mecanismul compensator al transferului placentar de bilirubină a fost brusc întrerupt. Bilirubina totală, în primele 24 de ore de la naştere poate atinge 5 mg/100 mL şi adeseori continuă să crească în primele 3 - 4 zile până la 10 - 12 mg/100 mL. La nou-născutul prematur, valorile bilirubinemiei sunt şi mai ridicate, putând ajunge în ziua a patra de la naştere la 24 mg/100 mL.

Creşteri ale *bilirubinemiei neconjugate* la valori care depăşesc 20 mg/100 mL realizează condiții favorabile pentru difuzarea pigmentului în țesuturi şi pătrunderea lui prin barierele lipoidice ale celulelor. Pericolul major este reprezentat de trecerea bilirubinei libere prin bariera hematoencefalică, când se poate ajunge la leziuni ireversibile ale sistemului nervos. Efectele nocive ale bilirubinei neconjugate, sunt potențate de diverşi anioni anorganici (salicilați, sulfamide). Pe de altă parte s-a constatat că administrându-se fenobarbital mamei în cursul travaliului, se obține o diminuare a intensității icterului nou-născutului, prin stimularea sintezei de proteină acceptoare de bilirubină şi a sintezei glucuroniltransferazei.

Hiperbilirubinemii familiale nehemolitice

Icterele familiale sunt sindroame hiperbilirubinemice cauzate de defecte genetice în procesele de captare , conjugare şi transport ale bilirubinei la nivelul hepatocitului fără alterări funcţionale şi biochimice.

Sindromul Gilbert este o afecţiune ereditară cu transmitere autozomală dominantă. Boala se datoreşte tulburării captării bilirubinei de către ficat şi de preluare a bilirubinei conjugate însoţite de reducerea activităţii UDP –glucuronil transferazei (uridindifosfat- glucuronil), de scăderea duratei de viaţă a eritrocitului care va da o producţie crescută de bilirubină.

Boala se manifestă printr-un icter uşor, intermitent şi se accentuează după diverse stress–uri, exerciţii fizice, vărsături repetate, post prelungit. Simptomele clinice pot lipsi sau uneori sunt prezente astenia, greţurile. Diagnosticul se bazează pe hiperbilirubinemie neconjugată moderată, în medie 3mg/100 mL. Testele funcţionale hepatice sunt normale.

Sindromul Crigler – Najyar este datorat unui defect genetic de transmitere autosomal recesiv şi care apare imediat după naştere. Boala se datoreşte incapacităţii ficatului de a sintetiza UDP – glucuronil transferaza necesară conjugării. Din acest motiv valorile bilirubinemiei neconjugate sunt crescute.

Tipul I –se caracterizează prin creşterea marcată a bilirubinei neconjugate, de 15 - 50 mg/100 mL, ceea ce conduce la instalarea unor leziuni grave în sistemul nervos central. Testele biochimice hepatice sunt normale. Copii suferinzi de această maladie mor în primul an de viaţă.

Tipul II – se caracterizează prin deficit parţial de glucuronil-transferază, afecţiunea este mai puţin severă. Valoarea bilirubinei neconjugate este mai scăzută 5-22 mg/100 mL, complicaţiile neurologice sunt mai rare.

Sindromul Dubin – Johnson este cauzat de un defect genetic transmisibil şi se caracterizează în primul rând prin creşterea *bilirubinei conjugate* (peste 50% din totalul bilirubinei). Această creştere este însoţită de bilirubinurie care colorează urina. O caracteristică a acestei maladii este colorarea ficatului în negru-verzui datorită acumulării unui pigment de culoare închisă. Icterul apare la orice vârstă, predominant în adolescenţă. Bolnavii pot fi asimptomatici sau prezintă simptome uşoare de astenie, dureri abdominale.

Sindromul Rotor este o hiperbilirubinemie conjugată familială, asemănătoare cu sindromul Dubin – Johnson dar se deosebeşte prin faptul că ficatul nu este colorat. Icterul apare între vârsta de 10-25 ani, de

intensități diferite, mai pronunțat după oboseală, consum de alcool, enervări, intervenții chirurgicale. Bolnavii pot fi asimptomatici sau în momentul intesificării icterului pot să apară simptome ca inapetență, astenie, dureri abdominale.

Determinarea bilirubinei în laboratorul clinic

- principiul metodei se bazează pe faptul că bilirubinele reacționează cu diazoreactivul (acid sulfanilic diazotat), formând o colorație roşie. Bilirubina conjugată, care este solubilă dă reacția imediat (B.D.), pe când cea neconjugată, insolubilă, dă reacția întârziat (B.I.).
- determinarea prin spectrofotometrie directă – serul este diluat într-o soluție de tetraborat de potasiu la pH 9,3 apoi se citeşte adsorbanța la 466 nm (corespunzătoare bilirubinei conjugate şi neconjugate) şi la 522 nm pentru a elimina eventuala interferență a hemoglobinei şi a carotenoidelor.
- dozarea bilirubinei delta care se efectuează foarte simplu prin tehnologia uscată cu ajutorul aparatului Ektachem Kodat.

Substanțe azotate proteice din sânge

Proteinele reprezintă componente esențiale ale materiei vii, structuri macromoleculare formate din aminoacizi uniți între ei printr-o legătură peptidică (-CO-NH-).

Plasma sanguină conține un amestec extrem de complex de fracțiuni proteice cu origine, structură, metabolism şi funcții diferite. Variațiile proteinemiei totale şi mai ales ale diverselor ei fracțiuni reflectă, într-o anumită măsură, desfăşurarea metabolismului protidic din celule şi țesuturi şi, în consecință, ocupă un loc important în cadrul investigării curente a acestui metabolism în diverse boli.

Proteinemia reprezintă una din constantele umorale ale organismului, menținută prin mecanisme complexe care realizează un echilibru dinamic între cantitatea de proteine sintetizate continuu de diverse organe (ficat, intestin) şi cea utilizată sau depozitată în diverse organe.

Concentrația proteinelor variază la un adult normal între 6,7 - 8,4 g/100 mL plasmă şi 6,5 - 8 g/100 mL ser. Deci, în plasmă se găseşte o cantitate de aproximativ 150 g proteine plasmatice extravasculare, în echilibru dinamic cu cele intravasculare; reprezintă o cantitate mică (aproximativ 400 g) față de totalul de proteine din organism, dar deosebit de importante datorită rapidei lor metabolizări.

Importanța proteinelor plasmatice rezidă şi din funcțiile multiple pe care acestea le îndeplinesc în organism:

- Mențin volumul normal şi presiunea coloid osmotică a sângelui: albumina exercită 80% din presiunea oncotică a plasmei.

- Funcția de transport se bazează pe proprietatea macromoleculelor proteice de a vehicula o serie de ioni, hormoni, vitamine, lipide, pigmenți, medicamente, coloranți etc.
- Proteinele serice participă la menținerea echilibrului acido-bazic al sângelui prin sistemul tampon proteină acidă/proteinat alcalin.
- Participă la procesele de apărare specifică şi nespecifică a organismului prin: imunoglobuline, properdină, lizozim, transferină, sistemul complement.
- Unele fracțiuni proteice intervin în desfăşurarea normală a proceselor de coagulare, în sinteza hormonilor, în procesele de gluco- şi lipogeneză etc.
- Menținerea tensiunii arteriale se face prin intervenția proteinelor plasmatice cu proprietățile lor hidrofile cât şi prin participarea hipertensinogenului.
- Funcția plastică este primordială mai ales la copil, unde procesele de sinteză sunt de o mai mare intensitate decât la adulți.
- Proteinele serice reprezintă o rezervă proteică importantă în situațiile în care aportul proteic scade.

Funcțiile multiple pe care le îndeplinesc explică necesitatea unui aport adecvat, cantitativ şi calitativ, evaluat pentru un adult la minimum 1 g proteine/kg corp pe zi, din care cel puțin jumătate trebuie să fie de origine animală.

Principalele proteine plasmatice

Albumina

Este componenta majoră a proteinelor plasmatice, reprezentând procentual 55 - 60% din totalul lor, sau 3,4 - 4,5 g/100 mL. Are o greutate moleculară cuprinsă între 65 000 - 69 000 daltoni şi este sintetizată în ficat în proporție de 10 - 12 g pe zi. Albumina prezintă cel mai lung lanț peptidic cunoscut cu peste 580 aminoacizi, predominând acidul glutamic, acidul aspartic, lizină, valină, leucină. Aminoacidul terminal este acidul aspartic.

Albumina îndeplineşte două funcții principale în plasmă:

a. asigură presiunea coloidosmotică a plasmei (în proporție de 80%) şi

b. transportă o mare varietate de componente: ioni anorganici (Ca, Mg, Pb, Zn etc), unii hormoni, vitamine, coloranți, bilirubină.

Serumalbuminele reprezintă o sursă mobilă de aminoacizi şi de azot, utilizabilă de diverse țesuturi.

Schimbul permanent dintre serumalbumine şi ţesuturi explică frecvenţa variaţiilor cantitative ale fracţiunii albuminice în diverse stări patologice.

Hipoalbuminemiile se instalează datorită:

- unui aport alimentar deficitar;
- malabsorbţiei;
- sintezei deficitare (disfuncţiei hepatice cronice);
- unei pierderi excesive întâlnite în: sindrom nefrotic, diaree, fistule intestinale, infecţii, intoxicaţii cronice, tumori.

Hipoalbuminemii întâlnite în: hepatite cronice, ciroze, subnutriţii, poliavitaminoze, dispepsiile copiilor şi în sindromul congenital de *analbuminemie*, anomalie rară caracterizată prin lipsa albuminelor.

Hiperalbuminemiile sunt extrem de rar întâlnite în patologie.

Bisalbuminemia este o altă tulburare genetică a sintezei albuminelor, caracterizată prin prezenţa în ser a două fracţiuni albuminice distincte.

Globulinele

Globulinele plasmatice, reprezentând 2,5 - 3,5 g/100 mL şi procentual 35 - 45% din totalul proteinelor plasmatice, sunt constituite dintr-un număr de fracţiuni cu origine, structură, metabolism şi roluri extrem de diferite. Electroforeza clasică separă 4 fracţiuni globulinice principale: alfa$_1$, alfa$_2$, beta şi gamma. Cu cât metodele de separare sunt mai perfecţionate, cu atât se pot disocia în mai multe subfracţiuni. Astfel, prin imonoelectroforeză se separă 30 de fracţiuni globulinice.

Alfa-globulinele reprezintă aproximativ 0,77 g/100 mL ser şi sunt constituite dintr-un grup extrem de heterogen de fracţiuni globulinice, care se sintetizează în cea mai mare parte în ficat.

Prin electroforeză se separă cele două fracţiuni alfa$_1$(0,3 g/100 mL ser) sau 4% şi alfa$_2$ (0,47 g/100 mL ser) sau 7%. Prin imunoelectroforeză din **fracţiunea alfa$_1$** se mai separă:

a) **Alfa$_1$-*antitripsina***, importantă deoarece este un inhibitor natural al proteazelor, inhibând pe lângă tripsină şi chimotripsină, kalikreina şi plasminele.

b) *Glucoproteina alfa-1-acidă* (orosomucoidul) - o glucoproteină cu masă moleculară 44 000 d. Se sintetizează în hepatocite, dar mai ales în cursul inflamaţiilor (reactant de fază acută). În hepatite şi insuficienţă hepatică GP-alfa-1-acidă scade semnificativ. Creşte în tumori maligne şi inflamaţii.

Valori normale: 60 - 80 mg/100 mL ser.

c) *Alfa-1-fetoproteina* este o glucoproteină cu greutate moleculară 65 000 d. Se formează în hepatocite dar numai în cursul vieţii

embrionare, după naştere practic dispare. În caz de hepatom malign reapare în circulaţie fiind considerat un marker tumoral important (vezi markeri tumorali).

Prin imunoelectroforeză s-au mai izolat anumiţi factori ai coagulării şi o lipoproteină.

Din *fracţiunea alfa$_2$* s-au izolat 10 subfracţiuni, dintre care cele mai bine studiate sunt: alfa$_2$-macroglobina, haptoglobina, ceruloplasmina şi anumiţi factori ai coagulării: protrombina, proconvertina, globulina antihemofilică şi factorul fibrinostabilizant.

a) **Alfa$_2$-*macroglobina***, cu o greutate moleculară până la 850 000 d este inhibitor natural al proteazelor. Valorile normale sunt: 1,5-4,2 g/L plasmă. În nefroza lipoidă concentraţia în ser creşte până la 30 g/L. Concentraţia sa scade sub valorile normale în artrita reumatoidă.

b) *Haptoglobinele.* Există trei fenotipuri de haptoglobină ce se pot pune în evidenţă prin electroforeză în gel de amidon.

Valorile normale sunt cuprinse între 0,5 - 3,5 g/L.

Scăderi ale haptoglobinelor se întâlnesc în: boli hepatice, anemii hemolitice şi creşteri în inflamaţiile acute, procese neoplazice, diabet zaharat etc.

c) *Ceruloplasmina* este o metaloglicoproteină cu greutate moleculară 130 000 - 160 000 d. Molecula ceruloplasminei conţine 0,32% Cu din greutatea sa totală. Fiziologic intervine în oxidarea Fe^{2+} la Fe^{3+}, fiind implicată în metabolismul transferinei.

Cea mai importantă variaţie patologică a sa este cunoscută în boala Wilson sau degenerescenţa hepato-lenticulară. Creşteri nespecifice ale concentraţiei acesteia se întâlnesc în procese inflamatorii şi maligne.

Beta-globulinele se găsesc în concentraţie de aproximativ 0,9 g/100 mL ser sau 12% şi sunt de asemenea extrem de neomogene, conţinând mai ales lipoproteine cu greutate moleculară mare dar şi alte fracţiuni proteice, cum sunt: unii factori ai coagulării (proaccelerina), properdina, tranferina. Fracţiunile beta-globulinice sunt sintetizate în special în ficat dar şi în alte ţesuturi ca: intestin, splină.

Beta$_1$-transferina (siderofilina) este transportorul de Fe plasmatic. Conţine 0,13% Fe din greutatea sa şi are o greutate moleculară aproximativ de 89 000 daltoni. Este sintetizată în ficat, probabil şi în splină, ganglioni limfatici şi ileon. Transferina se încarcă cu Fe ionizat provenit din mucoasa intestinală sau din organele de depozitare ale Fe (ficat şi alte ţesuturi). În mod normal numai 1/3 din transferină este saturată cu Fe. Nivelul normal al sideremiei corespunde acestei încărcări cu Fe a transferinei circulante.

Beta-1-microglobulina are o greutate moleculară de 11 000 d şi este alcătuită dintr-un singur lanţ peptidic „uşor". Plasma normală conţine cantităţi mici de beta-1-microglobulină (1 - 2 mg/dL), deoarece se elimină uşor prin urină. Ea se elimină în cantităţi crescute în inflamaţii, tumori maligne. În cazuri de anurie creşte în ser.

Gamma-globulinele au o concentraţie serică de aproximativ 1,45 g/100 mL (18%) şi sunt de asemenea neomogene, conţinând mici cantităţi de glico- şi lipoproteine şi mai ales diverse tipuri de anticorpi desemnaţi în prezent sub denumirea de imunoglobuline (Ig). La rândul lor imunoglobulinele sunt foarte heterogene dat fiind numărul mare de antigene care pot solicita un răspuns imunologic din partea organismului. În realitate, diversitatea moleculară a imunoglobulinelor depăşeşte zona gamma, ele prezentând o variaţie a vitezei de migrare în câmpul electric care determină dispunerea lor pe o arie largă a traseelor electroforetice, din zona alfa, până în zona gamma.

În structura imunoglobulinelor se întâlnesc următoarele tipuri de lanţuri polipeptidice:

a. Lanţuri uşoare sau L (de la light = uşor) având o greutate moleculară de cca 23 000 d., sunt formate din 213 - 216 aminoacizi; reprezintă baza materială a proteinelor Bence-Jones. Ele sunt prezente la toate clasele de Ig.

b. Lanţurile grele sau H (heavy = greu) format din minimum 440 aminoacizi şi având o greutate moleculară de minimum 50 000 d., sunt cele care imprimă apartenenţa moleculei de Ig la o clasă sau subclasă. Prin metode imunologice au fost identificate până în prezent 10 tipuri de lanţuri H care au fost denumite $\gamma(\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3$ şi $\gamma_4)$, μ (μ_1 şi μ_2), α (α_1 şi α_2), δ şi ε .

Diferenţele antigenice dintre diferitele categorii de lanţ H reflectă diferenţe importante de structură, care imprimă la rândul lor proprietăţi fiziochimice şi funcţionale caracteristice fiecărei clase de Ig.

Structura moleculară a Ig cuprinde un număr egal şi par de lanţuri polipeptidice H şi L.

Monomerul de bază este format din două lanţuri H şi două lanţuri L, legate între ele prin legături noncovalente (electrostatice, forţe Van der Vaals, momente dipol) şi prin punţi disulfurice covalente care se stabilesc la nivelul unor radicali cisteil.

Lanţul H este cel care stabileşte apartenenţa moleculei la o clasă sau subclasă de Ig. Astfel, în funcţie de lanţul H, imunoglobulinele pot fi IgG (lanţ γ), IgM (lanţ μ), IgA (lanţ α), IgD (lanţ δ) şi IgE (lanţ ε). Lanţurile uşoare sunt comune tuturor imunoglobulinelor, cu precizarea că într-o moleculă de Ig cele două lanţuri L sunt identice.

Imunoglobulinele G **(IgG)** reprezintă aproximativ 50% din totalitatea moleculelor de Ig din organism. Sunt monomeri, şi sunt singurele Ig care, traversând placenta, sunt prezente la nou-născut.

Imunoglobulinele M **(IgM)** sunt caracteristice răspunsului imun umoral primar şi formează o proporţie importantă a receptorilor pentru antigen, prezenţi pe membrana limfocitelor B imunologic competente.

Imunoglobulinele A **(IgA)** reprezintă principalul component al apărării imune umorale locale, fiind bogat distribuite în majoritatea lichidelor de secreţie (salivă, lapte, lacrimi, secreţii digestive). Ele sunt activ sintetizate de imunocitele situate în zona tractului digestiv şi respirator, precum şi a glandei mamare.

Imunoglobulinele D **(IgD)** mai puţin studiate, par să fie legate de glucide. Se pare că pot forma substratul molecular al unei activităţi de anticorp. Cercetări mai recente au stabilit rolul lor ca receptori celulari pentru antigen la nivelul limfocitelor B.

Imunoglobulinele E **(IgE)** reprezintă suportul molecular al anafilaxiei. Cuplarea dintre antigen (alergen) şi molecula de IgE are drept consecinţă o dezorganizare a structurilor moleculare ale membranei celulei bazofile, urmată de eliberarea în mediu a granulelor bazofile care conţin un număr important de specii moleculare cu puternică activitate biologică: histamină, serotonină, bradikinină şi heparină.

Disproteinemiile prin disglobulinemii sunt frecvent întâlnite în diverse afecţiuni, în care modificările cantitative ale unor fracţiuni globu linice realizează diverse tablouri disglobulinemice, care deţin o oarecare valoare pentru stabilirea diagnosticului şi urmărirea evoluţiei bolii cauzale.

Hiperglobulinemiile sunt sindroame care se întâlnesc frecvent, interesând una sau mai multe din subfracţiunile sale.

Hiperglobulinemia globală cuprinde creşterea alfa, beta şi gamma-globulinelor, cu scăderea albuminelor, fapt ce duce la diminua rea raportului A/G. Ea este prezentă în diverse boli inflamatorii cronice, tumori maligne, nefropatii cronice, precum şi în convalescenţa după agresiuni acute. Creşterea globulinelor poate să aibă semnificaţii diferite, fiind uneori rezultatul unei stimulări imunologice (boli infecţioase acute sau cronice), alteori apărând ca mecanism compensator al diminuării sintezei de albumină.

Hipergammaglobulinemia este cea mai frecventă disglobu linemie, fiind cauza a 50 - 70% din disproteinemii. Gamma-globulinele sunt reprezentate în cea mai mare parte de anticorpi, dar această fracţiune mai conţine, atât normal cât şi patologic, alte subfracţiuni care nu au activitate de anticorpi.

Hipergammaglobulinemia apare în orice infecție acută sau cronică (stafilococi, streptococi, tuberculoză, lues, endocardită bacteriană, hepatită virală, malarie etc) şi se datorează în special sintezei crescute de imunoglobuline. Dar creşterea gamma-globulinelor însoţeşte şi numeroase boli neinfecţioase, dintre care menționăm: colagenozele (lupus eritematos), poliartrita reumatoidă, bolile hepatobiliare, în special cirozele şi hepatitele cronice, în care, în afara diminuării albuminelor, pe traseul electroforetic se remarcă şi creşterea gamma-globulinelor; în schimb, în icterele obstructive nu se decelează creşteri ale gamma-globulinelor, constatare utilă pentru diagnosticul diferențial al icterelor. În unele mieloame, afecțiuni neoplazice de sistem, pe lângă hipergammaglobulinemie are loc şi o creştere a alfa$_2$ şi betaglobulinelor.

Hiperalfaglobulinemia se instalează totdeauna când apar tulburări ale metabolismului protidic, prin inflamații sau distrugeri ale țesutului conjunctiv. Creşterea alfa-globulinelor se întâlneşte în următoarele afecțiuni: inflamații acute (boli infecțioase acute, reumatism poliarticular acut, pneumonie, febră tifoidă, infarct de miocard etc), în care, concomitent cu alfa-globulinele, cresc haptoglobina, ceruloplasmina.

În sindromul nefrotic şi în diabet cresc masiv alfa$_2$-globulinele, concomitent cu scăderea albuminelor, aceasta fiind, probabil, legată de hiperlipidemia care însoţeşte aceste afecțiuni.

Hiperbetaglobulinemia este destul de rar întâlnită în patologie, mai frecvent însoțind creşterile alfa- şi gammaglobulinelor.

Beta-globulinele cresc în afecțiuni hepatice acute virale sau toxice, în unele ictere mecanice, diabet zaharat, în unele carcinoame, mai ales cele cu metastaze.

De foarte multe ori se constată o creştere asociată a unora din fracțiunile globulinelor. Astfel, majoritatea bolilor inflamatorii cronice şi tumorile maligne se însoţesc de hiperalfa şi hipergammaglobulinemii; cirozele hepatice sunt însoțite de hiperbeta şi hipergammaglobulinemie.

Hipoglobulinemiile, mult mai rare comparativ cu hiperglobulinemiile, sunt determinate în special de afecțiuni care provoacă hipoproteinemie şi afectează în special fracțiunea gammaglobulinică. Astfel, hipogammaglobulinemii se întâlnesc în: sindromul nefrotic, inflamații ale mucoasei gastrointestinale, colită ulceroasă, diaree infecțioasă cronică, neoplasme digestive, arsuri întinse etc. În toate aceste afecțiuni, datorită pierderilor de proteine serice are loc o carență proteică, agravată de aportul insuficient şi diminuarea ritmului sintezelor, care afectează atât concentrația serică a albuminelor

cât şi a gamma-globulinelor. Aceste tulburări predispun la susceptibilitatea crescută la infecții.

Fibrinogenul

Fibrinogenul, fracțiune omogenă, cu rol fundamental în coagulare, este o glicoproteină cu greutate moleculară mare (340 000 d). Din cauza dimensiunilor moleculare mari fibrinogenul trece în condiții fiziologice doar în cantități minime prin peretele capilar în lichidele interstițiale. În schimb, în focarul inflamator fibrinogenul trece cu uşurință, consecutiv alterării permeabilității capilare.

Fibrinogenul este sintetizat în celulele reticulo-histiocitare din ficat şi măduva oaselor într-un ritm extrem de rapid (de 50 de ori mai rapid decât albuminele).

Concentrația plasmatică a fibrinogenului variază între 3 - 5 g/1000 mL plasmă.

Hiperfibrinogenemiile sunt prezente frecvent în patologia umană însoțind o serie de procese inflamatorii (pneumonii, pleurezii), traumatisme, intervenții chirurgicale, neoplazii maligne, afecțiuni coronariene, afecțiuni cardiovasculare edematoase etc.

Hipofibrinogenemiile însoțesc o serie de afecțiuni, având mecanisme diferite de producere. Astfel, în inaniție, în afecțiuni digestive care alterează digestia proteinelor şi absorbția intestinală a aminoacizilor, în pelagră, scorbut etc. sinteza fibrinogenului este diminuată din cauza carenței de aminoacizi esențiali. În afecțiunile hepatice grave (atrofia galbenă acută, cirozele hepatice, hepatitele acute toxice), precum şi în afecțiunile care distrug măduva hematogenă (leucoze, metastaze neoplazice) hipofibrinogenemia este consecința diminuării celulelor care sintetizează fibrinogen.

Afibrinogenemia este o afecțiune transmisă recesiv şi caracterizată prin lipsa aproape totală a fibrinogenului din plasmă.

Determinarea fibrinogenului

Fibrinogenul din plasmă se coagulează cu exces de calciu, cheagul de fibrină se dizolvă în soluție alcalină şi se dozează proteina cu reacția biuretului.

Disproteinemiile din inflamația acută

Concentrația unor proteine plasmatice creşte în cursul stărilor inflamatorii. Acestea se numesc ***„proteine de fază acută"***. Creşterea lor este dată de mărirea sintezei hepatice mediată de interleukine, care nu influențează proteinele totale.

Analiza prin metode imunologice relevă creşterea în reacția de fază acută a următoarelor proteine: proteina C –reactivă, haptoglobina, α_1 –glicoproteina acidă, ceruloplasmina şi, α_1 –antitripsina. În paralel se constată şi o creştere a fibrinogenului şi accelerarea VSH-ului.

Proteina C-reactivă (CRP)

Este o glicoproteină cu masa moleculară de 120 000 d şi poartă această denumire deoarece poate precipita în contact cu polizaharidele-C din pneumococ. CRP este un marker precoce al inflamației acute deoarece creşte la 2-4 ore de la debutul procesului inflamator. Pe de altă parte are rolul de a activa complementul, de a facilita fagocitarea bacteriilor şi multiplicarea limfocitelor T.

Valoarea normală variază de la 0 la 6 mg/L.

Creşterea proteinei C –reactive se întâlneşte în:

- toate cazurile de inflamație, precedând creşterea orosomucoidului, a haptoglobinei (cu 2-3 zile) şi a fibrinogenului (cu 3 zile);
- în infecții bacteriene neo-natale;
- după intervenții chirurgicale. În mod normal concentrația CRP trebuie să scadă după 2-3 zile de la intervenția chirurgicală. Dacă aceasta continuă să fie crescută şi după 4 zile este posibilă o complicație infecțioasă.

Orosomucoidul

Este o glicoproteină cu masă moleculară de 40.000 d, bogată în glucide şi acid sialic, de unde şi denumirea *glicoproteina acidă* α_1.

Concentrația normală în plasmă variază între 0,6 şi 1,2 g/L.

Concentrația orosomucoidului creşte în plasmă în reumatismul articular.

Haptoglobina (Hp)

Haptoglobina este o glicoproteină bogată în glucide (peste 20%). Este capabilă să fixeze hemoglobina, de unde derivă şi numele său. Prin fixarea hemoglobinei formează un complex Hb –Hp cu propietăți enzimatice de tip peroxidazic.

Prin migrare electroforetică s-au descoperit 3 fenotipuri haptoglobinice şi anume: *tipul 1-1* caracterizat printr-o bandă unică în fracțiunea α_2 rapidă, *tipul 2-1*, cu o bandă mai slabă în fracțiunea α_2 rapidă şi o serie de benzi între fracțiunile alfa şi beta de *tipul 2-2* care

posedă benzi subțiri în zona alfa-beta. S-a mai descoperit o variantă fenotipică de tipul 21- caracterizată printr-o concentrație mai mare în regiunea beta –globulinelor.

Descoperirea grupelor serice de Hp prezintă un interes genetic deosebit, dar nu se cunoaşte importanța lor patologică deoarece nu s-a putut face nici o corelația între aceste grupe serice şi anumite stări patologice.

În schimb s-au constatat variații semnificative ale concentrației Hp într-o serie de afecțiuni. Astfel, creşteri ale Hp se întâlnesc în:

- inflamații acute şi cronice;
- după intervenții chirurgicale;
- sindroame infecțioase;
- neoplasme, în special cele cu metastaze osoase sau pulmonare.

Disproteinemiile prin deficiențe ale sistemului imuno-globulinic (sindroame de deficit de anticorpi) sunt datorate unor defecte primare sau secundare ale celulelor imunoformatoare, care au ca urmare diminuarea până la dispariția din ser a uneia sau a mai multor clase de imunoglobuline.

Disglobulinemiile prin stimularea sistemului imuno-globulinic (hiperimunoglobulinemii policlonale şi monoclonale)

Se consideră că fiecare tip de imunoglobuline este produs de o anumită spiță (clonă) de plasmocite (IgM fiind produse de celulele reticulare limfoide). În caz de stimulare antigenică se produce de regulă un răspuns din partea mai multor clone de celule imunocompetente şi în consecință cresc mai multe tipuri de imunoglobuline. Întrucât viteza de migrare electroforetică a acestor imunoglobuline este diferită, aspectul fracțiunii electroforetice gamma va avea un caracter difuz. Astfel de hiperimunoglobulinemii reactive se numesc şi *hiperimunoglobulinemii policlonale* şi apar în: inflamații cronice, ciroze, colagenoze.

În cazul unei proliferări tumorale se înmulțeşte doar o anumită clonă de celule care produce un tip de imunoglobuline. Se vorbeşte în astfel de cazuri de paraproteinemie, hiperimunoglobulinemie neoplazică şi *hiperimunoglobulinemie monoclonală*. Aceste imunoglobuline sunt denumite *paraproteine* sau proteine atipice, deşi ele nu diferă de imunoglobulinele normale decât prin concentrația lor serică foarte ridicată. Având aceeaşi viteză de migrare electroforetică aceste imuno-

globuline realizează o bandă îngustă omogenă iar prin spectrofotometrie se obține un aspect de pisc ascuțit.

De regulă paraproteinele conțin atât componenta H cât şi componenta L şi au caractere antigenice comune cu imunoglobulinele normale. În unele cazuri predomină producția de lanțuri uşoare care corespund proteinelor Bence-Jones, iar alteori se produc doar lanțuri grele (boala lanțurilor grele).

Dintre afecțiunile în care apar asemenea imunoglobuline serice menționăm: mielomul multiplu, macroglobulinemia Waldenström, boala lanțurilor grele.

Date de laborator în gamopatii monoclonale

Paraproteinemiile sunt stări patologice caracterizate prin prezența în sânge, în cantitate crescută, a unei imunoglobuline (Ig) sau a unui fragment de Ig (lanțuri uşoare sau lanțuri grele).

Proteinele Bence-Jones au o greutate moleculară relativ mică (40 000 daltoni), fiind formate din lanțuri uşoare (L). Ele se elimină prin glomeruli şi precipitând la nivelul tubilor renali, pot produce leziuni şi chiar insuficiență renală. Proteinele Bence-Jones se caracterizează prin faptul că ele precipită la 45 - 50°C şi se redizolvă la fierbere. Migrează electroforetic între fracțiunile beta şi gammaglobuline. Proteinele Bence-Jones sunt prezente în special în mielomul multiplu.

Mielomul

Este neoplazia caracterizată prin proliferarea plasmocitelor în măduva hematogenă a oaselor. Această proliferare determină leziuni scheletice multiple la care se asociază consecințele paraproteinemiei.

În funcție de extinderea procesului proliferativ se diferențează 3 forme:

1. *Mielomul multiplu* (peste 90% din cazuri) în care proliferarea plasmocitelor este generalizată dar cu predominanță în măduva hematogenă a oaselor.

2. *Mielom localizat* în care proliferarea este localizată osos sau extraosos. Are o evoluție lentă cu posibilitate de vindecare prin tratament local sau poate constitui o etapă în evoluția mielomului multiplu.

3. *Leucemia cu plasmocite* maladie rară cu manifestările unei leucemii acute cu paraproteinemie.

Mielomul multiplu

Principalele caracteristici ale bolii sunt: leziunile destructive ale oaselor, sindromul de insuficienţă medulară şi producţia de paraproteine.

Boala debutează după 40 de ani, mai frecvent la bărbaţi. Etiologia nu este cunoscută. Se presupun factorii genetici, virusuri oncogene şi/sau carcinogene fizice şi chimice.

Manifestările clinice apar după perioade relativ lungi de la începutul proliferării neoplazice. Simptomul cel mai frecvent este durerea osoasă, localizată cel mai adesea la nivelul coloanei vertebrale şi bazinului. Uneori durerile sunt localizate articular confundându-se cu cele reumatismale. La examenul clinic se pot evidenţia modificări ale reliefurilor normale produse de deformaţiile scheletului sau de fracturile patologice. La acestea se adaugă frecvent semne de anemie şi/sau manifestări hemoragipare (echimoze, petesii, gingivoragii, epistaxis). Anemia este rezultatul unei producţii scăzute de hematii datorate invaziei medulare de celule neoplazice, a pierderilor de sânge şi rareori a hemolizei. Manifestările hemoragipare sunt datorate hipervâscozităţii sângelui imprimată de o cantitate crescută de Ig şi care duce la tulburări de hemostază şi tulburări circulatorii.

Alte semne de debut pot fi astenia marcată, somnolenţa, dureri de tip nevralgic (sciatalgii, nevrite, pareze şi paralizii) în majo-ritatea cazurilor datorate leziunilor vertebrale şi mai rar infiltraţiilor meningeale.

Pacienţii cu mielom sunt predispuşi la infecţii repetate din cauza neutropeniei şi a efectelor imunopresoare ale chimioterapiei.

Insuficienţa renală se manifestă la 25% din cazuri şi este consecinţa leziunilor şi a obstrucţiilor tubulare produse de lanţurile uşoare, de hipercalciurie, amiloidoză şi hiperuricemie în timpul tratamentului cu citostatice.

Date de laborator

- Proteinemia este crescută peste 9 g%. Hiperproteinemia se explică prin cantităţile crescute de paraproteine (Bence Jones).
- Electroforeza proteinelor evidenţiază o bandă îngustă, în zona gamma sau beta, dată de cantitatea crescută de imunoglobuline.
- Polimerizarea şi/sau agregarea intravasculară a moleculelor de Ig duc la instalarea sindromului de hipervâscozitate.
- Prin imunoelectroforeză şi imunodifuzie se stabileşte tipul de lanţ uşor.
- Calcemia este frecvent crescută (în 50% din cazuri).
- Acidul uric poate creşte în cursul tratamentului cu citostatice.
- Fosfataza alcalină crescută.

• Hemograma arată o anemie, de regulă moderată, eritrocitele au aspect normocitar şi uşor hipocrom şi au tendinţa să se dispună în fişicuri. Numărul leucocitelor este uşor scăzut. Numărul trombocitelor poate fi normal sau scăzut. Uneori pe frotiu pot apare şi procente mici de plasmocite. Examenul măduvei evidenţiază creşterea numărului de plasmocite care apar difuz sau în cuiburi printre celelalte elemente celulare (plasmocitul este o celulă a limfocitului B care sintetizează şi secretă Ig). Plasmocitele sunt celule mai mari cu diametrul de 15-30 μ, rotunde sau ovale, cu citoplasma bazofilă. În citoplasmă se găsesc vacuole de diferite mărimi care conţin imunoglobulina sintetizată. Când vacuolele sunt numeroase, celulele au aspect muriform (celule Mott). În mielom plasmocitele pot avea aspecte morfologice diferite: plasmocite tinere, plasmocite adulte, plasmoblaşti şi plasmocite atipice.

• VSH –ul este mult crescut.

• În urină se indentifică proteina Bence Jones.

Macroglobulinemia Waldenström

Este o afecţiune care rezultă în urma proliferării maligne a celulelor limfoide secretoare de imunoglobuline M (IgM).

Maladia se întâlneşte rar, afectează ambele sexe, incidenţa maximă fiind între 60 şi 70 de ani. Simptomele bolii sunt consecinţa proliferării limfoplasmocitelor şi a imunoglobulinelor M. Datorită greutăţii moleculare mari (900 000 d) şi a configuraţiei particulare a acestora, macroglobulinemia Waldenström este cea mai frecventă cauză a hipervâscozităţii din paraproteinemii. Hipervâscozitatea este cauza tulburărilor circulatorii, hemoragice şi neurologice.

Manifestări clinice

Boala debutează insidios, cu astenie, scădere ponderală, paloare, intoleranţă la frig, tulburări de vedere, manifestări neurologice (nevralgii, cefalee, ameţeli, pareze tranzitorii).

Adenopatiile sunt generalizate sau limitate, ganglionii fiind moderat măriţi de volum, nedureroşi şi neaderenţi. Hemoragiile sunt frecvente (epistaxis, echimoze, hemoragii digestive şi cerebrale).

Date de laborator

• Hemograma arată prezenţa anemiei normocrome, normocitare, frecvent cu hematii în rulouri. Leucocitele pot fi normale dar poate fi prezentă şi leucopenia sau leucocitoza. Numărul trombocitelor este scăzut.

• Vâscozitatea serului este crescută.

• Proteinele totale sunt crescute ,peste 9 g/dL, datorită creşterii IgM.

• VSH –ul este foarte accelerat.

Boala lanţurilor grele

Reprezintă un grup de neoplazii limfoplasmocitare caracterizate prin prezența în sânge, uneori şi în urină, a paraproteinelor alcătuite doar din componenta H.

După tipul de lanț greu care prezintă creşteri s-au evidențiat: boala lanțurilor grele γ (gamma), boala lanțurilor grele α (alfa) şi boala lanțurilor grele μ (miu).

Boala lanțurilor grele γ a fost descrisă de Franklin în 1964. Cazurile descrise au prezentat creşteri ale componenetei H a imunoglobulinelor IgG. Manifestările clinice se caracterizează prin febră, adenopatii, hepato –splenomegalie.

Date de laborator

• anemie moderată, normocromă

• trombocitopenie

• leucopenie cu limfocitoză

• prezența de limfocite atipice

• în măduvă infiltrație limfoplasmocitară şi cu euzinofile

• prin imunoelectroforeză cu seruri specifice se pune în evidență prezența unei proteine alcătuită din lanțuri grele (uneori polimerizate între ele)

• proteinurie, care reprezintă viteză de migrare electroforetică asemănătoare cu cea a paraproteinelor serice, dar nu prezintă propietățile proteinelor Bence- Jones.

Boala lanțurilor grele α se caracterizează prin creşterea componentei H a imunoglobulinelor IgA. Boala este mai frecventă în țările mediteraniene, cu predilecție la tineri. Tabloul clinic este de malabsorbție cu adenopatii mezenterice, bolnavul prezentând diaree continuă. Are loc o infiltrație limfo-plasmocitară a intestinului subțire, în două stadii. Primul stadiu se pare că ar fi benign, reversibil prin tratament antibiotic şi al doilea stadiu este malign.

Electroforeza serului prezintă o bandă largă anormală în zona α_2 sau beta.

Boala lanțurilor grele μ în care are loc creşterea componentei H a IgM. S-au descris câteva cazuri de bolnavi cu leucemie limfatică cronică, cu mielom sau amiloidoză.

Crioglobulinemia

Se caracterizează prin prezența crioglobulinelor în plasmă, care precipită când sunt răcite sub temperatura corpului, fie „in vitro" fie în capilarele superficiale expuse la temperaturi scăzute. În ultimul caz, ele produc ulcerații superficiale ale pielii şi purpură, şi produc simptome de sensibilizare la rece. Crioglobulinele pot apare în diverse afecțiuni, cum sunt: mielomul multiplu, colagenoze, leucemii limfatice, precum şi în orice boală evoluând cu o creştere marcată a gammaglobulinelor.

Manifestări clinice

Rar apare vasculita, dar pacientul se poate prezenta cu purpură palpabilă la extremitățile inferioare, glomerulonefrită reflectată prin proteinurie, hematurie şi cilindrii hematici. Mai pot fi prezente anomalii ale testelor funcționale hepatice, dureri abdominale, afecțiuni cardiace sau pulmonare. Diagnosticul se bazează pe pozitivarea testului seric pentru crioglobuline.

Punerea în evidență a crioglobulinelor. Pentru punerea în evidență a acestor proteine atipice, recoltarea sângelui trebuie să se facă cu următoarele precauții: recoltarea se face cu seringă sterilă încălzită şi apoi sângele este repartizat în tuburi de centrifugă ținute în baie la 37°C. Recoltarea se face fără anticoagulant, pentru a separa serul. După retracția cheagului la 37°C se separă serul care se aduce în tuburi tip hematocrit şi se păstrează la 4°C. O crioprecipitare poate să apară în câteva ore, uneori sub formă de gelificare în masă a serului.

Procentul de crioprecipitat poate fi stabilit fie prin centrifugare la rece la 4°C sau prin dozarea diferențială a proteinelor totale înainte şi după îndepărtarea crioprecipitatului din ser.

Purificarea şi identificarea crioglobulinelor se face prin electroforeză şi imunoelectroforeză. Imunoelectroforeza crioglobulinei purificate confirmă existența unei singure clase de imunoglobulină.

Gammopatiile monoclonale benigne

Pe lângă creşterea cantitativă a unei imunoglobuline monoclonale, în plasmă (gammopatie monoclonală), pot exista şi paraproteinemii care nu sunt datorate unor proliferări maligne ale celulelor producătoare de Ig. Aceste hiperimunoglobulinemii monoclonale benigne

pot apare în diferite boli şi chiar la persoane normale. Această creştere de Ig este asimptomatică, evidenţierea ei făcându-se prin electroforeză, iar prin imunoelectroforeză se stabileşte tipul de lanţ greu sau uşor. S-au descris gammopatii monoclonale idiopatice de tip IgA, IgG şi IgM, a căror valori se menţin constant crescute pe o perioadă îndelungată dar nu se însoţesc de scăderea Ig normale. S-au descris şi cazuri în care s-au decelat cantităţi mici de proteină Bence-Jones în urina concentrată.

La aceste persoane VSH-ul este mult accelerat

Metode de dozare şi separare a proteinelor plasmatice

În anumite cazuri patologice este suficient să se determine doar proteinele totale. Aceasta se poate efectua prin mai multe metode, şi anume:

- *Metodele refractometrice* au la bază relaţia dintre indicele de refracţie a serului şi concentraţia proteinelor plasmatice.
- *Metodele fotocolorimetrice* sunt cele mai răspândite. Dintre ele în mod curent se aplică metoda biuretului şi reacţia Lowry.Reacţia biuretului se bazează pe formarea complexului colorat în violet pe care legăturile peptidice le formează cu reactivul biuretului (reactivul cuprotartric alcalin). Reacţia Lowry se bazează pe reducerea reactivului fosfomolibdo-tungstic de către tirozina şi triptofanul din constituţia proteinei.
- *Metode bazate pe absorbţie în U.V.* între 210 - 280 nm. La 210 nm absorbţia este direct proporţională cu concentraţia proteinelor. La 280 nm absorbţia este datorată în special tirozinei şi triptofanului.
- *Metodele imunochimice* (Mancini, Heremans) sunt bazate pe imunodifuzia radială cu anticorpul specific inclus în geloză. Aprecierea cantitativă a proteinei precipitată în disc prin anticorpul său specific se face prin măsurarea diametrului discului de precipitare cu exprimarea în mg%.
- *Micrometoda Kjeldahl* prezintă o utilizare importantă în laboratoarele clinice în special pentru a verifica şi standardiza conţinutul în azot al soluţiilor utilizate ca standarde de proteine.
- *Metode nefelometrice* cu ajutorul nefelometrului cu fascicul laser pentru analiza proteinelor. Principiul metodei constă în măsurarea nefelometrică a intensităţii luminii împrăştiate de complexul anticorp – antigen, care este proporţională cu cantitatea de complex format.

Metode de separare şi caracterizare ale proteinelor serice

- *Precipitarea cu soluţii saline.* Cea mai simplă separare a fracţiunilor proteice în albumine şi globuline se poate efectua cu ajutorul soluţiilor saturate de săruri: Na_2SO_4; $MgSO_4$; $(NH4)_2SO_4$, care vor

precipita proteinele cu greutate moleculară mare. Simpla adăugare de soluție saturată din aceste săruri va produce precipitarea globulinelor, iar albuminele rămânând în soluție vor putea fi determinate prin metoda biuretului. Globulinele vor fi determinate indirect, prin diferența între proteinele totale şi albumine.

• *Separarea prin solvenți organici:* etanol, metanol, eter, acetonă (metoda Cohn) permite separarea a cinci fracțiuni proteice datorită scăderii solubilității proteinelor la diferite concentrații de alcool.

• *Metodele cromatografice* au o largă aplicabilitate, în special separările pe coloane DEAE celuloză, sau filtrare în gel de sephadex.

• *Ultracentrifugarea* constă în sedimentarea diferențiată a fracțiunilor proteice plasmatice la o centrifugare rapidă, în funcție de densitatea, greutatea şi forma lor. Metoda permite separarea a 4 fracțiuni proteice: albuminele (7 000 d), majoritatea globulinelor cu greutate moleculară 160 000 d, macroglobulinele cu greutatea moleculară 1 000 000 d şi lipoproteine. Metoda necesită o aparatură extrem de costisitoare, ceea ce face să fie folosită doar pentru cercetarea ştiințifică.

• *Electroforeza,* cu diversele ei variante este metoda cea mai utilizată în prezent în toate laboratoarele clinice. Bazată pe proprietatea pe care o au proteinele plasmatice de a migra într-un câmp electric cu viteze diferite, în funcție de încărcătura electrică şi dimensiunile moleculare, electroforeza separă albuminele şi patru fracțiuni globulinice complexe (alfa$_1$, alfa$_2$, beta şi gamma), reprezentate printr-o diagramă, care integrată va da fig. 11.

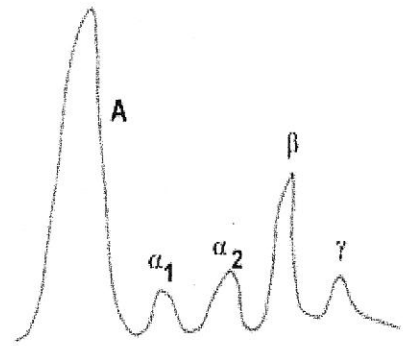


Fig. 11 – Curba caracteristică a „picurilor" serului normal înregistrate densitometric după banda electroforezei pe hârtie:
- albumină (A) 55%
- α_1 globuline 5%
- α_2 globuline 9%
- β globuline 13%
- γ globuline 18%

• *Electroforeza pe acetat de celuloză* permite separarea fracțiunilor proteice din ser mai precis şi în timp mai scurt decât electroforeza pe hârtie.

În figura 12 redăm curbele densitometrice înregistrate în câteva maladii, după benzile obținute cu acetat de celuloză.

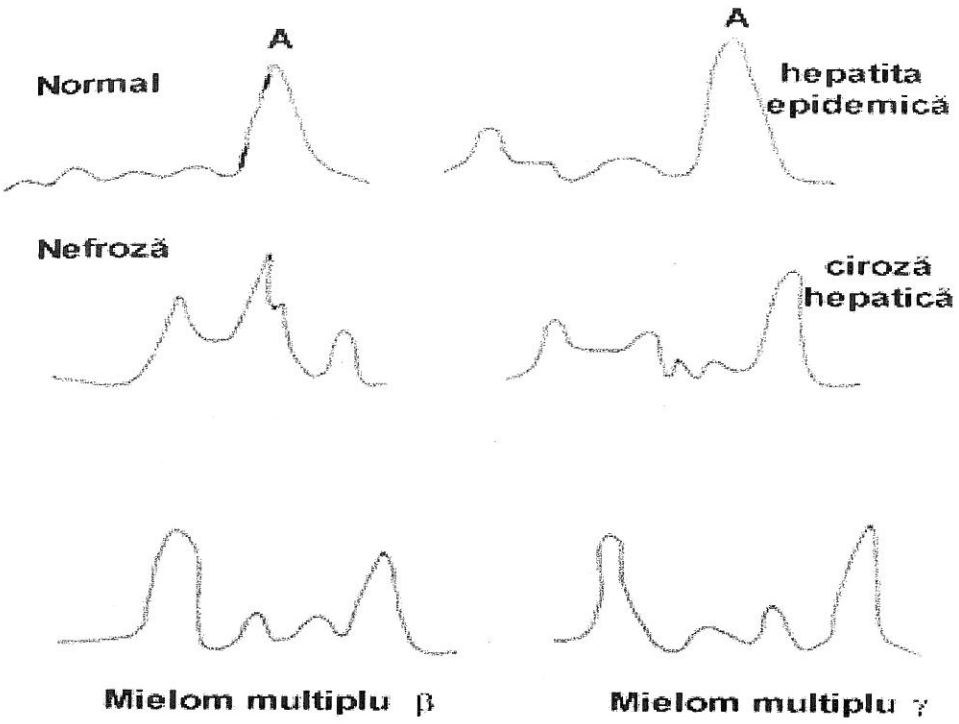


Fig. 12 – Curbe densitometrice obținute cu acetat de celuloză

În hepatita acută infecțioasă se observă o scădere a albuminelor serice şi o creştere semnificativă a gamma-globulinelor. Pacienții suferinzi de nefroză prezintă o scădere pronunțată a albuminelor şi o creştere a fracțiunilor alfa$_2$ şi betaglobulinelor. Serul provenit de la pacienții cu ciroză hepatică prezintă o creştere marcată a beta şi gamma-globulinelor. În mielom multiplu o creştere marcată a gamma-globulinelor şi respectiv beta-globulinelor şi scăderea albuminelor.

Electroforeza în gel (amidon, poliacrilamidă, agaroză) permite izolarea mai multor fracțiuni proteice plasmatice şi anume: 2 fracțiuni prealbuminice, 2 fracțiuni postalbuminice, o fracțiune alfa$_2$-rapidă, beta-globulina, alfa$_2$-lentă, beta-lipoproteina şi gamma-globulinele.

- *Electrocromatografia*, o metodă combinată între electroforeză şi cromatografie (metoda „finger printing" a lui Ingram) a permis studiul „amprentelor peptidice" obținute prin hidroliza proteinelor.

- *Metoda focalizării izoelectrice* (izoelectric focusing) şi *izotahoforeza* nu au încă aplicare curentă.
- *Imunoelectroforeza* oferă posibilitatea studiului a 30 de fracţiuni proteice plasmatice. Metoda constă în separarea electroforetică a fracţiunilor în gel de agar, urmată de precipitarea specifică a fracţiunilor sub formă de arcuri cu un ser antiproteină umană. *(Fig.13).*

Actualmente se cunosc aproape 100 de fracţiuni proteice serice dintre care 15 reprezintă aproximativ 96% din valoarea proteinemiei, iar restul totalizează doar 4%. Deşi componentele acestui ultim grup se găsesc în ser în concentraţii atât de reduse, încât este aproape imposibil să fie decelate prin metode obişnuite, ele au o importanţă funcţională deosebită fiind constituite din enzime, hormoni, factori ai coagulării, cărăuşi specifici hormonali, sau ai unor substanţe metabolic active (transferina, ceruloplasmina, haptoglobina).

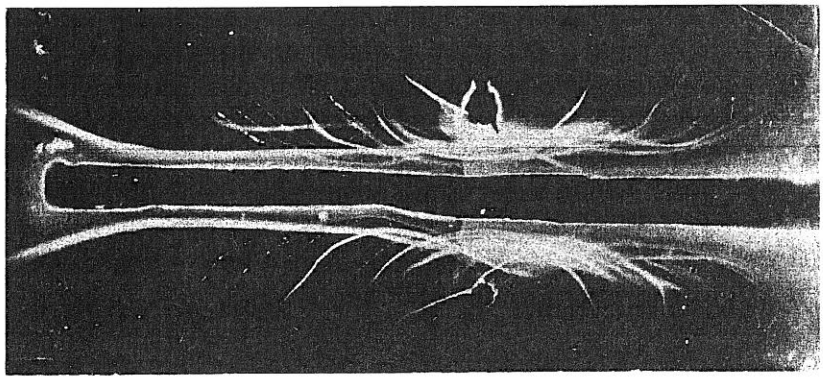


Fig. 13 - Imunoelectroforeza proteinelor plasmatice

Variaţiile cantitative ale proteinemiei totale

Valoarea normală a proteinelor totale este cuprinsă între 6,6 - 8,6 g/100 mL.

Cele mai importante tulburări ale metabolismului proteic se reflectă la nivelul plasmei şi se traduc prin hipoproteinemii, hiperproteinemii şi disproteinemii.

Hiperproteinemiile se întâlnesc relativ rar, de regulă în hemoconcentraţie (după pierderi mari de lichide), creşterea marcată a uneia sau a mai multor componente ale sistemului imunoglobulinelor (în mieloame), sau apariţia în exces a unor proteine patologice.

Hipoproteinemiile. Carențe proteice se întâlnesc în următoarele situații:

• aport insuficient în caz de înfometare, vărsături repetate, anorexie;

• scăderea absorbției intestinale în boli gastrointestinale sau pancreatice (creatoree);

• deficit de sinteză a unor proteine în caz de insuficiență hepatică;

• pierderi exagerate de proteine ca în sindromul nefrotic, arsuri, fistule, supurații;

• exagerarea distrucțiilor proteice ca în: leucemii, necroze, neoplasm;

• necesități crescute de proteine ca în timpul creşterii, al gravidității sau în hipertiroidism.

Carența prelungită de proteine duce la deteriorarea tuturor funcțiilor organismului, dintre care amintim:

• „edem de foame", datorat hipoproteinemiei (cu hipoalbuminemie) şi scăderea presiunii coloidosmotice;

• scăderea troficității pielii şi încetinirea vindecării plăgilor datorită edemelor;

• leziuni hepatice, în special la copiii în creştere, deficitul cronic de proteine realizează aspecte similare cu ciroza;

• scăderea rezistenței față de infecții datorită, cel puțin în parte, deficitului de sinteză a anticorpilor;

• anemie prin deficit de proteine şi fier;

• osteoporoză şi încetinirea formării calusului prin lipsa de formare a matricei proteice a oaselor;

• perturbări gastrointestinale cauzate de edemul peretelui intestinal;

• diminuarea sintezei enzimelor pancreatice de natură proteică, care pot agrava denutriția prin perturbarea digestiei.

Teste de disproteinemie *(teste de labilitate serică, teste* ***hepatice, teste de floculare)***

Tabloul normal al proteinelor plasmatice priveşte atât cantitatea totală de proteine cât şi anumite raporturi cantitative între diferitele componente. Raportul A/G este bine determinat fiind egal cu 1,6 - 2,5. Moleculele de albumine, sferice şi puternic hidrofile, contribuie în cea mai mare măsură la stabilitatea echilibrului plasmatic. O micşorare a albuminemiei, asociată frecvent cu o creştere compensatoare a globulinemiei, determină o labilizare a serului, creează posibilitatea

floculării proteinelor în condiții în care serul normal este stabil. Labilitatea coloidală a serului poate fi şi urmarea creşterii unor fracțiuni globulinice, fără ca albumina să fie considerabil afectată.

Testele de disproteinemie sunt metode simple şi rapide de investigație clinică a echilibrului proteic, bazate pe precipitarea proteinelor prin adaosul diverşilor agenți precipitanți.

Comparându-se rezultatele testelor de disproteinemie cu acelea obținute prin electroforeză, s-au putut stabili în linii mari cauzele pozitivării unuia sau altuia dintre diversele teste de disproteinemie.

Deoarece ficatul este sediul sintezei şi catabolismului majorității proteinelor serice, testele de disproteinemie sunt în primul rând indicatori ai funcției hepatice, din această cauză se numesc şi teste hepatice. Totuşi, şi afecțiuni nehepatice asociate cu creşteri ale globulinelor pozitivează testele de disproteinemie.

În testele de disproteinemie se utilizează drept reactivi, fie agenți precipitanți ai proteinelor, fie sisteme complexe care datorită sarcinii electrice proprii tulbură echilibrul proteinelor serice ceea ce duce la precipitarea particulelor coloidale proteice.

Testele de disproteinemie au o valoare strict orientativă, dar simplitatea şi reproductibilitatea lor le fac să fie foarte utilizate în laboratoarele clinice. De asemenea o judicioasă asociere a lor cu alte analize le măreşte considerabil semnificația.

S-a căutat să se stabilească o relație între diferitele fracțiuni proteice din plasmă şi rezultatele obținute de practicarea testelor de labilitate serică, reuşindu-se astfel să se efectueze o clasificare a acestor teste în funcție de modificările anumitor fracțiuni proteice din plasmă.

I. Teste bazate pe modificarea raportului A/G

- *Reacția Takata-Ara* se bazează pe faptul că soluția coloidală de oxid mercuric este stabilă în prezența albuminei serice, ce acționează ca un coloid protector. Globulinele neavând această proprietate, în cazul schimbării raportului A/G în favoarea globulinelor, va apare precipitarea.
- *Reacția Gross* cu clorură mercurică va da reacția pozitivă când raportul A/G este modificat în favoarea globulinelor.
- *Reacția Wunderly.* Un ser care conține albumine scăzute, cu un conținut crescut de alfa şi gamma-globuline produce în prezența $CdSO_4$ o reacție de turbiditate.
- *Reacția Weltmann* - cu $CaCl_2$ va da reacție pozitivă la un ser cu conținut crescut în globuline.

II. Teste bazate pe modificări ale beta-globulinelor

- *Reacția Kunkel cu fenol*

- Serul care conține beta-globuline crescute în prezența soluției de fenol 1% în soluție de NaCl 6% sau 12% vor produce o opalescență ce poate fi citită la fotometru.
- *Reacția Gate cu formol*

Serurile patologice vor produce o gelificare în prezența soluției de formol 40%.

III. Teste bazate pe modificarea gammaglobulinelor

- *Reacția Mac Lagan (cu timol).*

Soluția saturată de timol, la pH = 7,8 tamponată cu veronal-veronal sodic precipită gamma-globulinele. Intensitatea reacției este direct proporțională cu creşterea gamma-globulinelor.

Testul este foarte sensibil pentru leziuni hepatocelulare, hepatite, şi permite diferențierea de icterul prin obstrucție. Reacția poate fi crescută şi în boli nehepatice asociate cu hiperglobulinemie. Reacția este negativă între 0 - 5 U.M.L. şi slab pozitivă între 5 - 7 U.M.L. şi intens pozitivă peste 7 U.M.L.

- *Reacția Kunkel cu $ZnSO_4$*

Un ser care are fracțiunea gamma crescută precipită prin tratare cu o soluție diluată de $ZnSO_4$ la pH = 7,5.

Valori normale: 2 - 9 unități Shank-Hoagland.

Se mai pot utiliza şi alți agenți precipitanți cum sunt: acetatul de Cu, roşu coloidal, aur coloidal, sulfat de amoniu. Toate aceste reacții în prezența serurilor patologice vor da o opalescență sau un precipitat direct proporțional cu cantitatea de gamma-globuline.

Testele de disproteinemie nu prezintă valoare dacă nu se efectuează pe seruri proaspete, nehemolizate, perfect clare, care să nu conțină o cantitate crescută de lipide care imprimă serului o opalescență.

Testele de disproteinemie sunt pozitive în toate suferințele primare sau secundare hepatice, hepatite acute şi cronice, ciroze etc.

I.5. ENZIMELE PLASMATICE CU VALOARE DIAGNOSTICĂ

Enzimele sunt proteine dotate cu funcții catalitice specifice. Ele catalizează reacții în sisteme biologice care în lipsa enzimelor ar avea loc foarte lent.

Din cele aproximativ 2 000 de enzime cunoscute până în prezent, au fost studiate aproximativ 100 şi dintre acestea numai o mică parte se găsesc în plasmă şi sunt investigate în scop diagnostic.

Enzimele sunt produse în diverse celule ale organismului. Localizarea intracelulară a enzimelor la nivelul diverselor organite are o

deosebită semnificație funcțională în dirijarea proceselor metabolice. Cunoaşterea localizării intracelulare a diverselor enzime are şi valoare diagnostică, întrucât o lezare celulară care duce la eliberarea din celule a enzimelor mitocondriale este mai gravă decât o leziune limitată la membrana celulară şi care duce doar la ieşirea enzimelor citoplasmatice.

S-a stabilit că enzimele glicolitice (aldolaza, LDH) sunt localizate în citoplasmă, pe când enzimele implicate în respirația celulară, enzimele afectate ciclului acizilor tricarboxilici (piruvatdehidrogenaza, izocitrat-dehidrogenaza, glutamat dehidrogenaza) sunt localizate în mitocondrii. Dintre transaminaze, alanil amino transferaza se găseşte localizată în citoplasmă, pe când aspartat amino transferaza şi malicodehidrogenaza se găsesc atât în citoplasmă cât şi în mitocondrii.

La nivelul lizozomilor se găsesc incluse enzime cu rol în degradarea lipidelor, proteinelor şi acizilor nucleici (ribonuclează, dezoxiribonuclează, fosfataze, proteaze, colagenaze). Cât timp membrana lipoproteică a lizozomilor rămâne intactă, enzimele lizozomale nu atacă substratele din citoplasmă. Dezintegrarea acestei membrane este urmată de liza celulei.

Enzimele care se găsesc în plasmă pot fi clasificate în două grupe:

1. Enzime specifice plasmei, denumite şi enzime plasmatice funcționale, includ toate enzimele care au o funcție bine definită şi specifică în plasmă. Plasma este locul lor de acțiune şi ele se găsesc la un nivel mai ridicat decât în majoritatea țesuturilor.

Aceste enzime sunt sintetizate în ficat şi sunt eliberate constant în plasmă. Ele prezintă interes clinic când în plasmă au o concentrație mai scăzută față de normal. Dintre aceste enzime amintim: enzimele coagulării, lecitin - colesterol - acil -transferaza (LCAT), pseudocolinesteraza, ceruloplasmina, renina.

2. Enzime nespecifice plasmei, care nu prezintă funcții fiziologice în plasmă. Ele se găsesc în plasmă în concentrații mult mai mici decât concentrația lor în țesuturi. În multe cazuri plasma este deficitară în activatori sau coenzime necesare pentru activitatea optimă a acestor enzime.

Acest grup conține:

a. enzimele de secreție provenind din glandele exocrine şi pancreas, sunt secretate şi acționează la nivelul tubului digestiv şi dintre acestea amintim: amilaza, lipaza, tripsina, pepsinogenul. Deşi ele se secretă în cantități ridicate, sunt rapid şi complet eliminate prin canalele excretoare obişnuite, în tractul gastrointestinal, bilă, urină şi concentrația plasmatică este scăzută şi constantă. Ori de câte ori o cale uzuală de

excreție este blocată, sau dacă eliberarea în lichidul extracelular este brusc accelerată, sau rata de producere este crescută, concentrația în plasmă a acestor enzime va creşte semnificativ.

b. enzime celulare (AST, ALT, CK, LDH) au loc de acțiune în celulele din care provin, unde se găsesc într-o concentrație ridicată. Dacă membrana celulară este intactă, aceste enzime sunt absente în lichidul extracelular şi plasmă sau în concentrație extrem de mică. Prezența lor în plasmă se datoreşte unor scurgeri minime în cadrul procesului de uzură celulară sau în cursul diviziunii celulare, sau când există o perturabare a proceselor energetice celulare, caracterizate printr-o scădere a concentrației ATP din celule, care se repercută asupra permeabilității membranei celulare. Aşa se explică creşterea moderată a CK (creatinkinazei), în cursul unui efort muscular intens.

După ce enzimele celulare s-au scurs în plasmă, activitatea lor scade rapid, având un timp de înjumătățire (îndepărtare) de câteva ore, de exemplu pentru AST este de 46-58 de ore.

Scăderea activității plasmatice a enzimelor s-ar datora câtorva mecanisme:

a) în cursul trecerii prin membrana celulară enzima poate suferi modificări structurale. De exemplu CK suferă un proces de oxidare a grupelor – SH.

b) enzimele cu greutate moleculară mică, cum este α-amilaza ,se elimină pe cale urinară, iar fosfataza alcalină pe cale biliară.

c) majoritatea enzimelor sunt îndepărtate din plasmă printr-un proces de captare şi degradare în macrofage.

Viteza cu care enzimele pătrund din celule în lichidul interstițial şi de acolo în plasmă şi limfă, precum şi viteza de înjumătățire variază de la enzimă la enzimă. Acest lucru prezintă importanță diagnostică pentru cunoaşterea perioadei de timp când trebuie recoltate probele de sânge. De exemplu, activitatea AST-ului creşte la 4 – 8 ore de la producerea infarctului de miocard şi revine la normal după 3-6 zile.

LDH-ul pătrunde mai greu în torentul circulator, creşteri semnificative înregistrându-se după 8-12 ore, valori care se mențin 10-15 zile.

Mecanismul de trecere a acestor enzime în plasmă implică o creştere a permeabilității membranelor celulare care denotă de regulă o lezare a celulelor.

Mecanismul trecerii enzimelor şi izoenzimelor tisulare în plasmă este foarte complex. Ele pot ajunge în plasmă direct sau prin sistemul limfatic, ducând la modificarea concentrației lor plasmatice. Aceste disenzimii sunt datorate interacțiunii mai multor factori, dintre care amintim:

- localizarea intracelulară a enzimei şi permeabilitatea membranei celulare, mitocondriale şi nucleare;
- gradul de vascularizaţie a organului lezat;
- prezenţa sau absenţa unei bariere inflamatorii;
- greutatea moleculară a enzimelor, cele cu greutate mai mare traversând mai greu membranele.

Datorită acestor eliberări există posibilitatea localizării leziunii celulare indicată prin modificări enzimatice ce permit concluzii diagnostice cu caracter de specificitate.

Calcularea activităţii enzimatice

Pentru determinarea activităţii enzimatice a unei enzime se utilizează reacţia catalizată de către aceasta şi se dozează cantitatea de produs format sau cantitatea de substrat transformat.

Astfel 1 unitate de activitate enzimatică (1U) este cantitatea de enzimă care catalizează transformarea unui micromol de substrat în timp de 1 minut în condiţii optime de pH şi temperatură.

Activitatea enzimatică se exprimă în unităţi internaţionale U sau mU (1U = 1 000 mu) pe litru (U/L).

O nouă unitate de măsură internaţională este *katal*-ul. Un katal defineşte activitatea catalitică care permite transformarea unui mol de substrat pe secundă în condiţii optime de pH şi temperatură. În practică pentru lichidele biologice se utilizează *nanokatal.*

1 U/L = 16,67 nkat/L

Dar unităţile internaţionale nu rezolvă toate problemele care se ridică la determinarea activităţii enzimatice, cum sunt în principal *temperatura* şi *substratul.*

Nu s-a căzut încă de acord la stabilirea temperaturii pentru determinările enzimatice. Astfel, Societatea Germană de Chimie Clinică propune 25°C, Societatea Franceză de Biologie Clinică propune 30°C iar Statele Unite 37°C. Este important să se noteze diferenţele de valori obţinute în funcţie de temperatură. Există factori de conversie pentru a trece de la o temperatură la alta.

Dar şi utilizarea diferitelor *substrate* duce la modificarea activităţii enzimei. Astfel, metoda Bodansky utilizează β-glicerofosfatul ca substrat şi determină fosfatul pus în libertate sub acţiunea enzimei. Rezultatele sunt exprimate în Unităţi Bodansky, după numele autorului care a introdus metoda. Valoarea normală este considerată 1-4 U Bodansky care corespund la 18-27 U/L.

Tehnica King Armstrong utilizează phenilphosphatul la 37°C ca substrat şi dozează fenolul format. Valorile uzuale prin această metodă sunt 4-12 UKA care transformate corespund la 10 –46 U/L.

În concluzie, datorită introducerii unui mare număr de metode, nu este posibilă uniformizarea valorilor normale, deoarece mici modificări în tehnica de lucru poate produce variații mari ale valorilor activității enzimatice. Din acest motiv este recomandabil ca la fiecare metodă să fie trecute valorile de referință.

Principalele enzime plasmatice cu valoare diagnostică

Lactatdehidrogenaza (LDH)

Se găseşte în cantități mari în muşchiul striat, ficat, miocard, rinichi şi ganglionii limfatici şi în cantități mai reduse în pancreas, eritrocite şi plămâni. LDH poate fi separat în 5 izoenzime.

Ele diferă prin raportul în care sunt asociate lanțurile polipeptidice de bază. Cele două lanțuri de bază în cazul LDH sunt **H** (de la „heart"-inimă) şi **M** (de la „muscle"-muşchi). Izoenzimele LDH sunt tetrameri cu următoarele asocieri:

LDH_1;	LDH_2;	LDH_3;	LDH_4;	LDH_5;
H_4	H_3M	H_2M_2	HM_3	M_4

Cele cinci izoenzime sunt repartizate diferit în țesuturi. Astfel, LDH_1 predomină în muşchiul cardiac, în timp ce LDH_5 în ficat şi muşchii scheletici.

Valori normale: 120 – 240 U/L.

Variații patologice

Creşteri:

- infarct miocardic (de 4 ori valorile normale). Creşterea debutează la 10 ore după infarct cu maximum de la 48 la 72 de ore şi revine la normal după 15 zile.
- miocardită, miopatie;
- hepatită;
- leziuni hepatice toxice;
- boli maligne, leucemii acute;
- infarct pulmonar;
- anemie hemolitică când poate creşte până la 200 U/L şi anemie pernicioasă (valori până la 8 000 U/L).

Valoare diagnostică specifică o au modificările izoenzimatice. Astfel, creşteri ale LDH_1 şi LDH_2 se întâlnesc în infarctul miocardic şi anemie, iar LDH_4 şi LDH_5 în leziuni hepatice şi procese neoplazice.

Determinarea activității LDH

Principiul metodei se bazează pe transformarea NADH în NAD^+ sub acțiunea LDH în prezența piruvatului. Viteza de oxidare a NADH este proporțională cu activitatea LDH.

Izoenzimele LDH pot fi separate din ser prin electroforeză pe folii de acetat de celuloză, în gel de amidon, agar, poliacrilamidă prin vizualizare pe baza unei reacții de culoare.

Transaminazele

Aspartat aminotransferaza (AST), se găseşte în special în ficat, miocard, muşchii striați. La nivelul ficatului, 60% din AST este localizat în citoplasmă şi 40% în mitocondrii. Cantități mai reduse de enzimă se găsesc în rinichi, pancreas, plămâni şi eritrocite.

Valori normale: bărbați – 37 U/L, femei – 31 U/L;

Valori patologice: mai mari de 40 U/L.

Creşteri:

1. *patologia hepatică* (raportul AST/ALT mai mic decât 1- cu excepția cirozei). Creşteri marcate se întâlnesc în: -hepatita virală acută;
   -necroza toxică a ficatului.

Creşteri moderate (maximum de 10 ori valorile normale) pot apare în:

- hepatita cronică;
- hepatita medicamentoasă;
- ciroză;
- icter.

2. *patologie cardiacă* (raportul AST/ALT mai mare decât 1).

• Creşteri marcate (de 10-100 ori valorile normale) s-au observat în infarct miocardic (creşte după 4 ore, maxim la 16 -48 ore, revine la normal după 4-6 zile).

• Creşteri moderate (maximum de 10 ori valorile normale):

- mioacardită;
- chirurgie cardiacă;
- embolie pulmonară.

3. *patologie musculară* – sindrom de strivire;

- poli şi dermatomiozită;
- distrofii musculare;
- intervenții chirurgicale.

4. *stări hemolitice*
5. *hipotiroidie cu mixedem*

Determinări de laborator

Principiul metodei este bazat pe reacția dintre L-aspartat şi 2-oxo-glutarat cu formare de oxalacetat care va oxida NADH la NAD^+. Viteza oxidării NADH este proporțională cu activitatea catalitică a AST.

Se mai poate doza colorimetric prin determinarea piruvatului în cursul reacției cu 2,4 –dinitrofenilhidrazină şi formare a hidrazinei respective în mediu alcalin.

Alanil aminotransferaza (ALT), se găseşte în cantități mari în citoplasma celulelor hepatice şi în cantități mai reduse în musculatura striată, miocard, rinichi, pancreas.

Valori normale: bărbați 13 - 30 U/L
femei 10 - 24 U/L.

Valori patologice mai mari de 30 U/L.

Creşteri:

Patologia hepatică (raportul AST/ALT mai mic decât 1, cu excepția cirozei)

- creşteri marcate (de 10-100 ori valorile normale)
- hepatita virală acută;
- necroza toxică a ficatului.
- creşteri moderate (maxim de 10 ori valorile normale)
- hepatita cronică;
- ciroze;
- icter mecanic.

Creşterea ALT semnifică o citoliză hepatică care permite urmărirea evoluției bolii şi o eventuală recădere.

Determinări de laborator

La fel ca în cazul AST-ului, Societatea Franceză de Biochimie Clinică (SFBC) şi Federația Internațională de Chimie Clinică (IFCC) recomandă aceleaşi condiții de reacție şi anume: reacția de transfer a grupării aminice de la L-alanină la 2 –oxoglutarat în prezența ALT şi oxidarea NADH la NAD^+. Viteza oxidării NADH este proporțională cu activitatea catalitică a ALT.

Creatinfosfokinaza (CK)

Este localizată cu predominență în musculatura scheletică, creier, miocard. S-au pus în evidență trei izoenzime: CK/MM de origine musculară şi miocardică, CK/BB găsită în țesutul cerebral şi CK/MB provenită doar din miocard.

Acestă enzimă catalizează formarea de ATP din creatin fosfat şi ADP şi se inactivează foarte repede prin oxidarea grupărilor SH.

Valori normale: femei 25-175 U/L
bărbați 25-200 U/L
CK-MB sub 24 U/L

Risc crescut de infarct miocardic: creşteri ale CK-MB şi CK, iar CK-MB reprezintă între 6 şi 25% din activitatea totală a CK.

Variaţii patologice

- creşteri marcate (de 8 ori valorile normale) în infarct miocardic, ele sunt foarte precoce, survin în primele 3-6 ore cu maximum în 24-36 ore şi revin la normal după 3-4 zile, paralel cu creşterea CK-MB;
- distrofii, miopatii;
- infecţii musculare repetate;
- tetanos;

Creşteri ale CK- BB

- accident cerebral vascular;
- traumatism cerebral;
- tumori;
- meningită, encefalită.

Determinări de laborator: prin metoda colorimetrică, bazată pe reacţia de culoare (albastru de molibden) a acidului fosforic eliberat din reacţie. Spectrofotometric se determină prin două metode cu hexokinază şi glucozo-6-fosfatdehidrogenază ca reactiv enzimatic şi metoda cu fosfoenolpiruvat, enolază, piruvat-kinază.

Amilaza

Este o enzimă de secreţie exocrină şi prezentă în ser cu două forme izoenzimatice principale: salivară şi pancreatică. Enzima este prezentă în salivă, pancreas, ficat, suc duodenal, intestin subţire.

Valori normale: 230 - 2700 U/L
30-110 U/L metoda cinetică 37°C
8-30 U. Wolghemuth
5-100 U. Somogyi

Variaţii patologice

- creşteri marcate ale amilazei (de 30-40 ori valoarea normală) se întâlnesc în *pancreatita hemoragică*. Creşterea se manifestă la 3-6 ore de la debutul bolii, maxim la 20-30 ore şi se normalizează după 2-8 zile. Determinarea amilazemiei se completează cu amilazuria deoarece amilaza se elimină prin urină. Decalajul creşterii amilazuriei faţă de amilazemie este de 6-12 ore.
- creşteri moderate se întâlnesc în:
  - cancer de cap de pancreas;
  - afecţiuni abdominale acute (ulcer perforat, ocluzie intestinală, colecistită acută, litiază biliară);
  - afecţiuni ale glandelor salivare (parotidă, calculi salivari);
  - sarcină extrauterină, administrări de narcotice, opioide.

O creştere a amilazemiei se poate întâlni şi în caz de defect de eliminare renală prin diminuarea filtrării glomerulare. Amilaza se poate

combina cu glicoproteinele sanguine (imunoglobulinele IgG sau IgA) formând „*macro amilaze*" care nu se pot filtra prin glomerul. În acest caz se observă o hiperamilazemie fără hiperamilazurie.

Determinări de laborator: colorimetric prin:

a. măsurarea degradării amidonului prin acțiunea alfa-amilazei. Amidonul dă cu iodul un compus de adiție de culoare albastră. Intensitatea culorii iod-amidon măsurată fotometric este proporțională cu concentrația amidonului rămas după incubația cu enzime şi deci invers proporțională cu activitatea enzimatică;

b. degradarea polimerilor de amidon insolubili în apă, legate de un colorant (remazolbrilliant-blau-B). Evaluarea se face pe baza creşterii extincției datorită colorantului eliberat.

Fosfataza alcalină

Fosfataza alcalină serică este alcătuită din trei forme izoenzimatice: hepatobiliară, osoasă şi intestinală la care se adaugă în cursul sarcinii o formă tranzitorie, forma placentară.

Fosfataza alcalină osoasă este produsă în osteoblaşti şi are rol în formarea țesutului osos.

Valori normale:	copii	110-400 U/L
	femei	sub 104 U/L
	bărbați	sub 117 U/L

(tehnica cu paranitrofenilfosfat cinetic 37°C)

Variații patologice

Creşteri patologice ale fosfatazei alcaline se observă în afecțiuni hepatice şi osoase.

Creşterea fosfatazei alcaline hepatobiliare

- colestază de orice cauză (extra sau intrahepatică). În cazul unui icter cu valoarea fosfatazei alcaline crescute dar cu transaminazele normale sau moderat crescute, denotă un icter colestatic;
- forma intestinală ajunsă pe cale limfatică în ser creşte în cirozele hepatice şi ulcer duodenal;
- forme atipice se-ntâlnesc în procese neoplazice, în special hepatice.

Creşterea fosfatazei alcaline osoase

- în perioada creşterii;
- rahitism;
- osteomalacie;
- metastaze osoase.
- în rahitism creşterea fosfatazei alcaline între 150 – 1000 U/L este considerată a fi cel mai sigur criteriu de diagnostic, creşte cu o lună

şi jumătate înainte de manifestarea clinică a bolii şi scade după tratament cu vitamina D_2;

- în hiperparatiroidism primar fosfataza alcalină serică creşte până la 500 U/L după ce survin modificări scheletice extensive. Modificările fosfatazei alcaline sunt însoţite de hipercalcemie şi hipofosfatemie;
- în boala Paget apar valori crescute ale fosfatazei alcaline, dar calciul şi fosforul rămân în limitele normale;
- fosfataza alcalină de origine placentară apare în ser în ultimele luni de sarcină;
- semnificaţia fosfatazei alcaline placentare în diagnosticul tumorilor maligne a fost evaluată întâmplător prin descoperirea izoenzimei placentare în serul unui bolnav cu cancer bronşic şi a fost numită „Regan" după numele acestuia.

Izoenezima Regan creşte în plasmă în tumorile maligne, cancer ovarian, cancer de col uterin, cancer pulmonar. Incidenţa izoenzimei placentare în serul bolnavilor de cancer variază între 5-33%. Ea poate fi utilizată pentru urmărirea evoluţiei şi prognosticului în tratamentul cancerului. Valoarea ei scade după un tratament eficient, reapărând odată cu reluarea procesului neoplazic.

A mai fost identificată o **izoenzimă Nagao** în unele tumori (testiculare, timus). Aceste două forme patologice se diferenţiază de fracţia placentară prin propietăţile lor imunologice.

Mai există o altă formă **intestinală fetală**. Este o enzimă care există la nivelul intestinului fătului până în săptămâna 25-32 de gestaţie (şi poate fi dozată în lichidul amniotic). Este alcătuită din două forme de origine intestinală şi placentară şi posedă propietăţile biochimice ale celor două izoenzime.

S-a observat creşterea fosfatazei alcaline şi în boala Hodgkin şi mielomul multiplu, în insuficienţa cardiacă congestivă, în bolile intestinale inflamatorii.

Determinări de laborator: colorimetric prin metoda standardizată internaţional, bazată pe hidroliza paranitrofenil-fosfatului.

Izoenzimele se pun în evidenţă şi se caracterizează prin: electroforeză în gel de amidon sau poliacrilamidă, vizualizarea făcându-se prin azocuplare cu sarea de diazoniu, Fast blue BB, cu naftolul provenit din alfa-naftil fosfat.

Fosfataza acidă

Se găseşte în cantităţi mari în prostată şi în cantităţi mult mai mici în ficat, splină, rinichi, eritrocite, trombocite şi glandele endocrine.

Fracțiunea prostatică a fosfatazei acide este inhibată de tartrat ceea ce permite dozarea diferențiată a acestei fracțiuni.

Valori normale: fosfataza acidă totală: 0-9 U/L
fosfataza acidă prostatică: 0-3 U/L

Variații patologice

Creşterea fosfatazei acide totale are loc în:

- carcinom de prostată;
- adenom de prostată (creşteri moderate).

Creşterea fosfatazei acide trombocitare:

- infarct, embolie pulmonară;
- trombocitoză;
- hemoliză;
- boala Paget.

Creşterea fosfatazei acide prostatice:

- carcinom de prostată;
- adenom de prostată (creştere moderată).

Determinări de laborator: colorimetric, bazat tot pe reacția de hidroliză a paranitrofenilfosfatului dar în mediu acid. Izoenzimele se caracterizează prin mobilitate electroforetică sau inhibiție chimică diferențiată: L-tartratul inhibă activitatea izoenzimei prostatice (şi leucocitare), iar formaldehida inhibă izoenzimele eritrocitare şi trombo citare.

Lipaza

Lipaza pancreatică degradează trigliceridele în digliceride, în monogliceride şi apoi acestea sunt transformate în glicerol şi acizi graşi.

Valori normale: 7-60 U/L (metoda Cormway la 550 nm)
20-210 U/L (turbidimetric la 400 nm)

Variații patologice

Hiperlipazemie în:

- pancreatită acută şi cronică;
- cancer de cap de pancreas.

În pancreatita acută lipaza se menține mai mult timp crescută decât amilaza.

Determinări de laborator

Prin metodă turbidimetrică, bazat pe hidroliza trigliceridelor la mono- şi digliceride solubile şi citirea la 400 nm sau cinetic colorimetric la 550 nm.

Aldolaza

Este de origine musculară şi hepatică. Ea scindează fructozo 1,6 difosfatul în 3-fosfogliceraldehidă şi fosfodihidroxiacetonă la nivelul

tuturor celulelor şi fructozo-1-fosfat în fosfodihidroxiacetonă şi gliceraldehidă, la nivelul ficatului.

Valori normale

0,5-7,6 U/L la 37°C (cinetic la 340 nm).

Variaţii patologice

- creşte marcat în miopatii;
- aldolaza împreună cu CK creşte în patologia musculară;
- creşte marcat în hepatita virală, dar în general această enzimă nu se utilizează pentru depistarea sau urmărirea evoluţiei unei hepatite virale.

Pseudocolinesteraza serică (PsCE)

Este o enzimă secretată activ în plasmă de către ficat. Pseudocolinesteraza serică este un indicator al funcţiei proteosintetice a ficatului. Ea *scade* mult în insuficienţele hepatice (hepatite, ciroze), în intoxicaţii cu organofosforice şi la bolnavi cu denutriţie proteică gravă.

Scăderile moderate se pot întâlni în anemii grave de tip Biermer, în infecţii acute, după un infarct miocardic.

Creşteri ale pseudocolinesterazei serice se întâlnesc în sindromul nefrotic, în perioada de vindecare a unei hepatite, precum şi la obezi, diabetici, în hiperparatiroidismul neînsoţit de caşexie.

Determinări de laborator: pseudocolinesteraza eliberează prin hidroliza butiriltiocolinei, tiocolina, care reacţionează cu DTNB (acid 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoic) dând un compus colorat galben colorimetrabil.

Gamma-glutamyl-transferaza (γ-GT sau GGT)

Gamma-glutamyl-transferaza se găseşte predominant în celulele hepatice, renale, pancreas şi prostată. Activitatea plasmatică a γ-GT este mai crescută la bărbaţi decât la femei.

Valori normale:	cinetic la 405 nm	5-80 U/L
	femei (la 37°C colorimetric)	7-32 U/L
	bărbaţi	11-50 U/L

Cauzele creşterii activităţii γ-GT:

- Icter colestatic când activitatea creşte în paralel cu fosfataza alcalină.
- Creşteri marcate se mai întâlnesc în: hepatite alcoolice, administrări de anticonvulsivante, fenitoină, fenobarbital, medicaţie contraceptivă.
- În maladiile hepatocelulare ca hepatita infecţioasă este de preferat determinarea activităţii transaminazelor serice care este mai relevantă decât γ-GT.
- Atingeri pancreatice (pancreatită, cancer).

Determinări de laborator

Metodă cinetic colorimetrică utilizând γ -glutamil –4-nitranilidă. Viteza formării de 4 –nitroanilină corespunde activității γ -GT.

Variațiile enzimelor serice în câteva boli caracteristice

Infarctul miocardic

Infarctul miocardic se însoțește de modificări enzimatice caracteristice. Creşterea AST, CPK şi LDH prezintă o anumită dinamică, ceea ce face ca în aprecierea rezultatelor date de laborator să se țină cont de intervalul de timp care a trecut de la producerea infarctului, respectiv de la apariția manifestărilor clinice. Acest interval de timp corespunde decalajului între producerea obstrucției coronariene şi modificările suferite de celulele lezate, ieşirea enzimelor din aceste celule şi trecerea lor în circulația sanguină. CPK se modifică cel mai precoce, dar creşterea acestei enzime este de scurtă durată. AST-ul prezintă o creştere maximă în ser după 16 - 48 de ore de la producerea infarctului, normalizându-se după 4 - 6 zile, iar modificările LDH (LDH_1 şi LDH_2) sunt cele mai persistente. LDH creşte la 10 ore după infarctul miocardic şi revine la normal după 15 zile. Intensitatea modificărilor enzimatice în ser dă o orientare destul de fidelă asupra extinderii zonei lezate. Creşteri ale AST peste 150 mUI şi ale LDH la peste patru ori limita superioară a normalului, denotă o leziune extinsă. Interpretarea datelor se face în strânsă legătură cu rezultatele obținute la ECG. Explorarea enzimelor serice are valoare diagnostică deosebită în special atunci când ECG este necaracteristică pentru infarct şi în special în microinfarcte.

Enzima	*Debutul creşterii (ore)*	*Concentrația maximă după producerea infarctului (ore)*	*Durata menținerii concentrației crescute (zile)*
CK(total)	4 - 6	24 - 48	3 - 5
AST	6 - 8	24 - 48	4 - 6
LDH	12 - 24	7 - 12	7 - 12

Boli ale ficatului

În mod normal raportul între AST şi ALT în ser, raportul DeRitis este aproximativ 1,3. Ficatul este principala sursă de ALT, deci o creştere a acestei enzime care depăşeşte nivelul AST (scade raportul DeRitis) atrage atenția asupra unei suferințe hepatice.

Hepatita virală acută se caracterizează prin creşterea progresivă a transaminazelor serice şi în special a ALT. Se poate afirma că nu există hepatită acută fără modificări ale transaminazelor. Creşterea acestor enzime începe înainte de creşterea bilirubinei, iar în cursul primelor două săptămâni atinge valori maxime. Valori excesiv de mari ale transaminazelor serice denotă existenţa unei hepatite severe cu zone întinse de necroză. O importanţă prognostică mai mare decât gradul de creştere al transaminazelor se atribuie duratei acestei creşteri. Lipsa tendinţei de normalizare a ALT-ului după 8 - 10 săptămâni de boală este un indiciu de trecere spre „hepatita persistentă". Nu se poate vorbi despre o vindecare a hepatitei acute decât atunci când transaminazele s-au normalizat şi rămân normale şi după eforturi moderate.

Hepatita acută se însoţeşte de o scădere moderată a pseudocolinesterazei serice, fenomen care denotă o alterare a funcţiei proteosintetice a ficatului, dând indicii asupra gravităţii procesului. În perioada de vindecare a hepatitei acute se constată o creştere a pseudocolinesterazei şi indică un prognostic favorabil.

Hepatitele cronice se caracterizează prin valoarea moderat crescută a transaminazelor serice (20 - 100 U/L). În aceste situaţii trebuie efectuate şi testele de disproteinemie pentru explorarea mezenchimului hepatic.

În *cirozele hepatice* creşterea enzimelor este de regulă moderată, deoarece masa celulară este redusă. Diminuarea sintezelor proteice la nivelul ficatului în ciroză duce la o sărăcire a celulelor în ALT astfel încât în formele avansate ale unor ciroze această enzimă nu mai creşte nici măcar în cursul exacerbărilor acute.

Tumorile hepatice nu dau modificări enzimatice caracteristice, dar în ficatul metastazat se constată o creştere moderată a transaminazelor şi totodată o creştere marcată a LDH şi γ-GT. Fosfataza alcalină şi bilirubina cresc în funcţie de gradul în care se perturbă eliminarea bilei.

Boli ale căilor biliare

Litiaza biliară nu se însoţeşte de modificări ale enzimelor serice, atâta timp cât nu apar complicaţii.

În *icterul mecanic* se produce o retenţie a enzimelor eliminate prin bilă, constatându-se o creştere a fosfatazei alcaline şi a γ-GT.

În procesul de colestază alături de creşterea bilirubinei conjugate şi a acizilor biliari în ser cresc şi unele enzime cum sunt: fosfataza alcalină, γ -glutamiltransferaza (γ -GT), 5-nucleotidaza (5-NT) şi leucinamino peptidaza (LAP). Importanţă diagnostică prezintă fosfataza alcalină şi γ -GT care prezintă creşteri şi când valoarea

bilirubinei este normală. Dar fosfataza alcalină poate creşte şi în bolile osoase şi în boli ale intestinului. Din acest motiv, ori de câte ori se observă o creştere a fosfatazei alcaline, fără semne clinice, trebuie determinate izoenzimele sale. Când creşterea fosfatazei alcaline este însoțită de creşterea γ -GT, se poate afirma existența unui proces colestatic. Nivelul γ -GT nu creşte în maladii osoase. În sindroamele colestatice γ -GT creşte de 10-50 ori față de normal, iar fosfataza alcalină de 3-10 ori. Trebuie subliniat faptul că determinările γ-GT nu pot face diferențierile între colestaza intrahepatică şi cea extrahepatică.

Creşterea izolată a γ-GT sugerează un alcoolism cronic. Dar această creştere se poate produce şi după un tratament prelungit cu antidepresive sau anticonvulsivante.

Leziunile toxice ale ficatului pot duce şi ele la creşteri importante ale γ -GT. În intoxicațiile cu solvenți organici alături de creşterile AST, ALT, LDH creşte şi γ -GT.

Boli ale pancreasului

În bolile pancreasului se urmăresc în primul rând creşterile α-amilazei şi lipazei care survin în *pancreatita acută* şi în puseurile acute ale pancreatitei cronice. Creşterea α-amilazei are loc la 3 - 6 ore de la debutul pancreatitei acute şi atinge valori maxime după 20 - 30 de ore când poate depăşi de 10 ori limita superioară. O necroză extinsă a pancreasului duce la creşteri de 40 de ori valoarea normală. Datorită eliminării prin urină a acestei enzime, valorile normale în ser revin după 48 - 72 ore.

Din acest motiv determinările activității α-amilazei în urină sunt superioare ca valoare diagnostică determinărilor efectuate pe ser. Trebuie avut în vedere că activitatea serică a amilazei poate fi datorată şi amilazei provenite din glandele salivare. Parotiditele se însoțesc de creşteri importante ale α -amilazei. În aceste situații cele două izoenzime se diferențează prin separări electroforetice sau prin absorbția pe schimbători de ioni.

În *pancreatita cronică* şi carcinomul pancreatic α-amilaza creşte doar în cursul unor pusee.

Pancreatita cronică are un caracter lent, progresiv şi poate ajunge cu timpul la insuficiență pancreatică. În astfel de situații normal α-amilaza ar trebui să scadă dar aceste scăderi nu au importanță diagnostică deoarece 2/3 din α-amilază serică este provenită din glandele salivare. Din acest motiv o scădere a amilazei pancreatice influențează în mică măsură valoarea amilazei totale serice.

Boli ale musculaturii

Distrofiile musculare sunt însoțite de creşteri ale CK, aldolazei, transaminazelor şi LDH.

Leziunile traumatice ale musculaturii (după accidente sau intervenţii chirurgicale) dau modificări ale CK, transaminazelor, LDH şi aldolazei.

În cazul de debut al distrofiilor musculare progresive când manifestările locomotorii sunt încă diminuate se constată creşteri ale CK şi ale aldolazei. Când boala progresează şi musculatura este înlocuită cu un ţesut conjuctiv şi grăsime, nivelul enzimelor serice scade.

În patologia musculară se mai determină mioglobina, miozina şi creatina care cresc în miopatii.

Boli ale oaselor

Când se poate exclude pe baze clinice o afecţiune hepatobiliară, fosfataza alcalină reflectă starea funcţională a osteoblaştilor. Fosfataza alcalină este crescută în afecţiunile osoase care evoluează cu reacţie osteoblastică. În *rahitism* au loc creşteri importante ale fosfatazei alcaline. Valori crescute se mai întâlnesc în *hiperparatiroidism* primar sau secundar, când s-a ajuns la afectarea oaselor. În hiperparatiroidismul primar (adenom al paratiroidelor) decalcifierea oaselor este însoţită de hipercalcemie şi hipofosfatemie.

În boala *Paget* (osteodistrofia deformantă) nivelul calcemiei este normal deoarece calciul rezultat din procesele de osteoliză dintr-o zonă este reutilizat într-o altă zonă în osteogeneză. Din acest motiv determinarea fosfatazei alcaline este foarte importantă pentru punerea diagnosticului. Creşterea fosfatazei alcaline la un bolnav cu o afecţiune neoplazică poate sugera dezvoltarea metastazelor osoase.

Neoplazii

Diagnosticarea sigură a tumorilor maligne pe baza determinărilor enzimatice nu poate fi efectuată. Interpretarea însă în lumina datelor clinice, a unor modificări ale enzimelor serice poate fi de ajutor în problemele de diagnostic.

Creşterea LDH constatată în 40 - 90% a cazurilor cu tumori maligne este o modificare nespecifică, întâlnindu-se şi în numeroase alte afecţiuni: infarct, hepatită, anemie de tip Biermer.

Metastazele în ficat produc creşteri ale transaminazelor, a LDH, glutamatdehidrogenazei (GLDH) iar fosfataza alcalină creşte mai mult decât ar putea explica eventuala retenţie biliară. Astfel de manifestări la un bolnav cu carcinom gastric, pancreatic sau intestinal sugerează apariţia metastazelor hepatice.

Carcinomul pancreatic produce creşteri ale amilazemiei doar în 50% a cazurilor.

Carcinomul de prostată produce creşteri ale fosfatazei acide tartrat-inhibată în 80% din cazuri. De asemenea creşte γGT.

Carcinoamele mamare cu metastaze în oase şi ficat se însoţesc şi ele de creşteri ale fosfatazei acide.

I.6. MARKERI TUMORALI

Markerii tumorali sunt substanţe secretate de celulele maligne care pot fi decelate în diversele lichide biologice, cum sunt: ser, urină, revărsate lichidiene (ascită, lichid pleural) ale bolnavului canceros, în concentraţii mult crescute faţă de normal.

Din punct de vedere funcţional sunt substanţe enzimatice, hormonale sau metabolice, iar din punct de vedere biochimic sunt în general proteine.

Punerea în evidenţă şi dozarea acestor markeri este importantă pentru diagnosticarea precoce a unui cancer, pentru elucidarea cazurilor în care cancerul este suspicionat dar tumora scapă examenului clinic şi pentru urmărirea evoluţiei acestuia, a extensiei tumorale, a metastazărilor şi eficacităţii terapeutice.

Producerea de markeri tumorali variază de la o tumoare la alta, celulele canceroase fiind foarte eterogene.

Principalii markeri biologici cu valoare clinică

A. Proteine oncofetale sau de diferenţiere

Deşi unele tipuri tumorale (în general în sfera tubului digestiv şi a organelor anexe) sunt însoţite frecvent de creşterea nivelului anumitor proteine oncofetale, lipsa producerii acestor proteine nu exclude diagnosticul de cancer (rezultate fals negative). Totuşi, în cazurile în care tumora produce proteine oncofetale, nivelul acestora este proporţional cu volumul şi evoluţia tumorii, dând posibilitatea monitorizării eficiente a tratamentului în funcţie de valorile nivelului seric.

În general, adenocarcinoamele gastro-intestinale produc în cantităţi mari antigen carcino-embrionar, celulele tumorale hepatice şi tumorile derivate din sacul vitelin produc alfa-1-fetoproteină, iar cancerele pancreatice antigen pancreatic oncofetal.

Alfa-1-fetoproteina

Alfafetoproteina (AFP) este o glicoproteină serică cu migrare electroforetică în regiunea alfa-1. Are greutate moleculară 75 000 daltoni şi aparţine grupului de proteine numite „oncofetale" sau „carcino-embrionare", sintetizate în ţesuturile embrionare sau placentare ca şi unele tipuri de celule transformate malign. Molecula are în structură un singur lanţ polipeptidic şi un lanţ glucidic (4% din moleculă).

Este sintetizată în ficat în timpul vieții intrauterine şi în cantități mici în membranele sacului vitelin şi mucoasa gastrointestinală, îndeplinind o funcție fiziologică pentru făt asemănătoare albuminei la adult. Sinteza începe în săptămâna a 4-a a vieții intrauterine (debutul embriogenezei ficatului fetal), ajungând la concentrație maximă în serul fetal în perioada săptămânilor 10 - 13 (3 000 μg/mL), apoi scăzând rapid până la 200 μg/mL în săptămâna a 32-a.

AFP trece în urina fătului şi, în consecință, în lichidul amniotic unde ajunge la un raport maxim de la 1 la 200 față de serul fetal în săptămânile 12 - 14 şi scade paralel cu cea din serul fetal. Concentrațiile maxime de AFP în serul matern ajung în săptămânile 28 - 32 de gestație la aproximativ 500 μg/mL. Timpul de înjumătățire a AFP în ser este de 5 - 6 zile, nefiind încă cunoscute modalitățile de metabolizare.

Deşi s-au făcut multe supoziții, analogii şi experimente pe animale privind rolul AFP în organism, acesta nu este pe deplin elucidat, fiind în general acceptate următoarele funcții:

- Funcția coloidosmotică, înlocuind albumina a cărei sinteză apare mai târziu în viața fetală;
- Funcția de transport şi protecția a unor hormoni în cursul vieții intrauterine;
- Funcția imunoreglatoare, acționând asupra celulelor T supresoare, pe care le activează diminuând efectele fenomenelor de agresiune tip „grefă contra gazdă".

Dozările radioimunologice sau prin imunodifuzie au arătat creşteri moderate în procesele de citoliză hepatică benignă (hepatite virale acute, hepatite cronice), creşteri marcate, durabile, în hepatocarcinom, cu scăderea valorilor după chimioterapie anticanceroasă. Valori ridicate s-au mai înregistrat în adenocarcinomul gastric, pancreatic, biliar sau metastazări la nivel hepatic. AFP nu permite un diagnostic precoce, valori crescute existând când tumoarea este deja extinsă.

Antigenul carcino-embrionar (CEA)

Substanțele încadrate imunoreactiv în categoria antigenului carcino-embrionar corespund unei familii heterogene de molecule proteice şi sunt produse de multiple tipuri de cancer.

Antigenul carcino-embrionar este o glicoproteină ce se acumulează la suprafața celulelor tumorale, difuzează în spațiul extracelular şi pătrunde în sânge. Este un marker tumoral pentru cancerele colonice, a vezicii urinare, gastrice, mamare, bronşice. Este detectabil şi în stările precanceroase şi trebuie luat în considerare dacă valorile sunt mari şi persistente în timp îndelungat. Valorile normale sunt

sub 2,5 μg/mL, iar în neoplasm depăşesc 10 μg/mL. Determinarea CEA constituie un test util pentru diagnosticarea şi monitorizarea unor tumori. În cancerul mamar valorile CEA sunt cu atât mai mari cu cât stadiul bolii este mai avansat. În cancerul vezicii urinare, CEA creşte la aproximativ 50% din cazuri şi scade după radioterapie.

Antigenul oncofetal pancreatic (POA)

Antigenul oncofetal pancreatic este crescut la 60% din bolnavii cu cancer pancreatic. Specificitatea acestui test fiind foarte mare, testul pozitiv este aproape concludent pentru diagnosticul de cancer pancreatic. Totuşi, absenţa unui nivel crescut de POA nu exclude diagnosticul de cancer pancreatic, deoarece în 40% din cazuri rezultatele sunt fals pozitive.

Antigenul tumoral-4 (TA-4)

Antigenul tumoral-4 a fost depistat printr-o tehnică radio-imunologică în carcinomul spino-celular al colului uterin aflat în stadii avansate. Nivelul ridicat al TA-4 sugerează extinderea bolii, neevidenţiabilă întotdeauna pe baza examenului clinic.

Antigenul Hodgkinian

Prezintă valori crescute în cancerul gastric (mai puţin specific) şi mai specific în stările precanceroase: ulcerul calos al micii curburi sau fornixului gastric, anemia Biermer, polipoza gastrică.

Antigenul polipeptidic tisular creşte în tumori vezicale.

β-macroglobulina este o proteină care formează lanţul uşor al antigenelor de histocompatibilitate leucocitară (HLA). Creşteri serice se întâlnesc în mielomul multiplu, în sindromul inflamator, imunodeficienţe şi boli hepatice.

C-erb β-2 codifică o proteină transmembranară asemănătoare dar distinctă de receptorul factorului de creştere epidermală (EGF-R). Proteina poate fi receptor pentru unul sau mai mulţi liganzi.

Valoarea ei serică creşte în cancerul de sân, ovar, stomac, plămân, vezica urinară, rinichi.

Carbohidrat antigen C.A. 15.3 reprezintă o familie de glicoproteine asociate tumoral, asemănătoare mucinei, localizate în zona apicală a alveolelor şi ductelor glandei mamare; se identifică ca antigene circulante. Aceşti markeri sunt similari cu CA 15-3 şi CA 548.

Creşteri serice moderate apar în boli beningne de sân ,plămân, pancreatite. Creşterile sunt marcate în cancerul de sân, ovar, metastaze pulmonare.

Carbohidrat antigen CA 19-9 este o glicoproteină situată pe suprafaţa celulelor canceroase. Apar creşteri moderate în boli inflamatorii

pulmonare şi hepatobiliare şi creşteri marcate în cancerul pancreatic, colorectal, gastric şi pulmonar.

Carbohidrat antigen 72-4 (CA 72-4) este o glicoproteină cu greutatea moleculară mare, similară mucinei. Pare a fi un produs de secreţie al celulelor epiteliale. Antigenul tisular mai este denumit TAG-72 (tumor Associated Glycoprotein-72). Este markerul seric utilizat curent în studierea cancerului gastric. Markerul tisular utilizat în clasificarea cancerului de origine epitelială şi în diferenţierea adenocarcinoamelor de origine mezotelială. Mai creşte în cancerul pulmonar, de sân, în adenocarcinomul de ovar.

Cancer antigen 125 (CA 125) este o glicoproteină de membrană. Creşte fiziologic în timpul sarcinii şi menstruaţiei. Creşte marcat în cancerul ovarian.

Catepsina D este o glicoproteină, protează identificată în linia celulară MCF-7, localizată în lizozomi, aparat Golgi, endosomi. Are efect mitogen în vitro şi proteolitic asupra matricei extracelulare. Creşte în cancerul de sân.

Epidermal growth factor receptor (EGF-r) este o glicoproteină de membrană, cu greutate moleculară mare, alcătuită dintr-un domeniu extracelular capabil să cupleze factorul de creştere epidermal şi un domeniu intracelular (citoplasmatic), cu activitate tirozinazică şi este similar proteinei C-erb β-2.

Creşteri serice se întâlnesc în cancerul de sân, vezică urinară, pulmonar, rectal.

Estrogen receptor (ER) este o proteină localizată în nucleii celulelor mamare şi uterine, receptor al estradiolului. Absenţa ER la nivel tisular în cancerul de sân este un indicator al reactivităţii tumorii faţă de tratamentul hormonal, al unui risc crescut de recidivă.

B. Enzime serice

În cursul bolii canceroase se produc modificări în activitatea unor enzime, în sensul creşterii/scăderii nivelului lor seric.

Fosfataza alcalină placentară (izoenzima Regan) este crescută în 40% din seminoamele testiculare şi a fost demonstrată sinteza ectopică de către diverse tumori.

Fosfataza alcalină osoasă. Activitatea serică a fosfatazelor alcaline este în legătură cu tumorile maligne osoase sau hepatice. Pentru diferenţierea neoplaziilor osoase de cele hepatice se utilizează determinarea 5-nucleotidazei, marker al metastazelor hepatice (tumoare osoasă cu metastaze hepatice).

Fosfataza acidă şi fosfataza acidă prostatică ajută diagnosticul cancerului de prostată, de obicei în faza metastazelor osoase.

Lactat dehidrogenaza (LD) prezintă activitate serică crescută în leucemii, limfoame, cancere digestive sau genitale.

Aldolaza este crescută în cancere pulmonare, esofagiene, mamare, metastaze hepatice.

Gama-glutamil-transpeptidaza serică este crescută în metastaze hepatice, cancer pancreatic, hepatom, dar şi în leziuni hepatice benigne (hepatită cronică, alcoolism, ciroză). El reprezintă şi un test sensibil şi precoce pentru tulburările funcționale hepatice datorate administrărilor în doze mari de medicamente cu epurare hepatică.

C. Hormoni ectopici (substanțe hormon-like)

În evoluția unei tumori, producția de hormoni are semnificație diferită, fiind vorba de hormoni produşi de o tumoare cu origine neuro-endocrină care şi-a păstrat capacitatea hormono-secretantă sau de hormoni ectopici (sau substanțe hormon-like) produşi de tumori cu originea în țesuturi care în mod normal nu au funcție endocrină.

Prin dozarea în sânge a acestor substanțe (hormonii ectopici sau hormon-like) se poate aprecia cantitatea de țesut tumoral cu funcție endocrină (sau asemănătoare secreției endocrine).

Polipeptidul vasoactiv intestinal (VIP) poate fi utilizat ca marker biologic în cancerele bronşice, cancerul tiroidian.

Hormonul adenocorticotrop (ACTH) este produs în unele cancere, în primul rând în cancerul pulmonar cu celule mici (în „boabă de ovăz"). Producerea de ACTH, în special când este asociat cu producerea beta-lipotrofinei (LPH) sugerează prezența unui cancer pulmonar, pancreatic, gastric, esofagian.

Gonadotrofina corionică umană (HCG) este considerată „marker" în tumorile trofoblastice şi reprezintă principalul criteriu în monitorizarea tratamentului.

Cu toate că HCG poate fi produsă şi de tumori ovariene, tumori testiculare, tumori hepatice, gastrice şi mamare, importanța clinică a dozării acesteia este clar demonstrată doar în boala trofoblastică gestațională. În mod practic, scăderea HCG la valorile producției hipofizare indică eficiența tratamentului şi permite luarea deciziei de oprire a tratamentului citostatic.

Calcitonina este un hormon produs de celulele C tiroidiene. Valoarea ei creşte în ser la bolnavii cu poliadenomatoză, în carcinom medular tiroidian, cancer pulmonar, de ficat, de sân.

Scăderea valorii markerilor tumorali reflectă reducerea masei tumorale, în urma tratamentului. Această scădere se observă în mielomul multiplu şi macroglobulinemie când scad paraproteinele (imunoglobuline anormale); în tumorile testiculare scade gonadotropina corionică umană

(hCG); iar în cancerul prostatic scade fosfataza acidă prostatică şi antigenul specific prostatic (PSA). Această glicoproteină joacă un rol important în detectarea precoce a cancerului de prostată, fiind unicul marker tumoral utilizat până în prezent.

Markerii tumorali pot fi utili şi în screeningul bolnavilor cu risc pentru un anumit tip de cancer, cum este cazul alfa$_1$-fetoproteinei (AFP), care poate servi ca marker predictiv pentru dezvoltarea carcinomului hepatocelular la pacienţii cu ciroză.

Trebuie totuşi să menţionăm că markerii tumorali nu sunt suficient de specifici pentru a putea fi utili în diagnosticarea sigură a unei tumori, datorită faptului că valoarea lor poate creşte şi în afecţiuni benigne.

Markerii tumorali, în general, sunt utilizaţi pentru a urmări răspunsul la terapie a unui anumit tip de cancer.

CAPITOLUL II

EXCREȚIA RENALĂ

Rinichiul este un organ important în menținerea homeostaziei organismului. Funcția lui principală este de producere a urinii prin care se elimină produsele finale ale metabolismului, substanțele în exces şi substanțele străine.

Formând urina, rinichiul îndeplineşte o serie de funcții foarte importante pentru organism:

- Elimină substanțele inutile şi toxice rezultate din metabolism. Astfel, din oxidarea proteinelor din organism rezultă substanțe azotate neproteice (uree, acid uric, creatină, creatinină, bilirubină conjugată), sulfați (proveniți din oxidarea sulfului din compoziția acizilor aminați sulfurați) şi fosfați organici (din structura acizilor nucleici).
- Reglează echilibrul acido-bazic în cooperare cu plămânul şi cu diferitele sisteme tampon din spațiul extracelular. Rinichiul menține constanța pH-ului sanguin, care variază foarte puțin (7,35 - 7,40) în timp ce pH-ul urinei are variații foarte largi (4,7 - 8,2).
- Reglează volumul şi osmolaritatea fluidelor organice prin procese selective de resorbție sau secreție a apei şi a ionilor. Astfel, constanța presiunii osmotice a sângelui este menținută datorită capacității rinichiului de a elimina apa sau sărurile în exces. Ca urmare, densitatea urinii va oscila între valorile extreme 1 002 şi 1 040, pe când densitatea plasmei este stabilă la 1 027.
- Menține concentrația relativă şi absolută a constituenților normali ai plasmei sanguine, prin funcția de retroreabsorbție selectivă a substanțelor cu prag de eliminare (glucoză, acizi aminați, vitamine etc.).
- Participă la biosinteza, reglarea şi secreția unor hormoni, ca renina, eritropoetina precum şi a urokinazei, ca activator al fibrinolizei.

II.1. ELEMENTE DE STRUCTURĂ FUNCȚIONALĂ RENALĂ

Nefronul

Unitatea morfofuncțională a rinichiului este nefronul. La om fiecare rinichi conține 1 milion de nefroni. Lungimea unui nefron este în medie de 15 mm, deci întinderea totală a nefronilor într-un rinichi este de 15 km.

Nefronul este alcătuit din 2 elemente: glomerulul şi tubul urinifer (*Fig .14*).

Glomerulul

Glomerulul este format dintr-un mănunchi de capilare sanguine arteriale, provenite dintr-o arteriolă aferentă şi din care iese arteriola eferentă. Are forma şi mărimea unei sfere cu diametrul de 200 μ. Glomerulul cuprinde un înveliş, capsula Bowmann şi un ghem de capilare. Spațiul urinar cuprins între acest ghem şi capsulă se deschide în tubul contort proximal.

Capsula Bowmann este constituită dintr-o membrană bazală, dublată pe fața sa profundă cu un epiteliu plat. Ea este în continuitate cu membrana bazală tubulară şi cu cea a capilarelor glomerulare. Membrana bazală cuprinde trei straturi: unul central electronic dens şi două, mai puțin dense electronic, lamina rara, externă şi internă. Endoteliul capilar este situat înăuntrul membranei bazale, înconjurând în întregime lumenul capilar. El este „fenestrat", având pori cu diametrul de 600 –1 000 Å. Fața externă a membranei bazale este acoperită cu celule epiteliale denumite „podocite", ele fiind inserate prin „pedicele" (picioruşe). Între aceste picioruşe este zona de filtrare prin membrană „filtration split membrane". Sângele care trece din glomerulul capilar în spațiul tubular trebuie să traverseze, deci, o membrană ce constă din trei structuri: endoteliu capilar (fenestrat), membrana bazală (cu cele trei straturi) şi un strat epitelial complex (cu podocite). Complexitatea şi dimensiunile structurilor de trecere condiționează permeabilitatea selectivă a suprafeței de filtrare în funcție de diametrul, forma, greutatea moleculară şi de sarcina electrică a substanței ce urmează să traverseze membrana. Greutatea moleculară a substanței care traversează membrana glomerulară nu trebuie să depăşească 70 000 daltoni.

Tubul urinifer

Tubul urinifer este alcătuit din: tubul contort proximal, ansa Henle şi tubul contort distal.

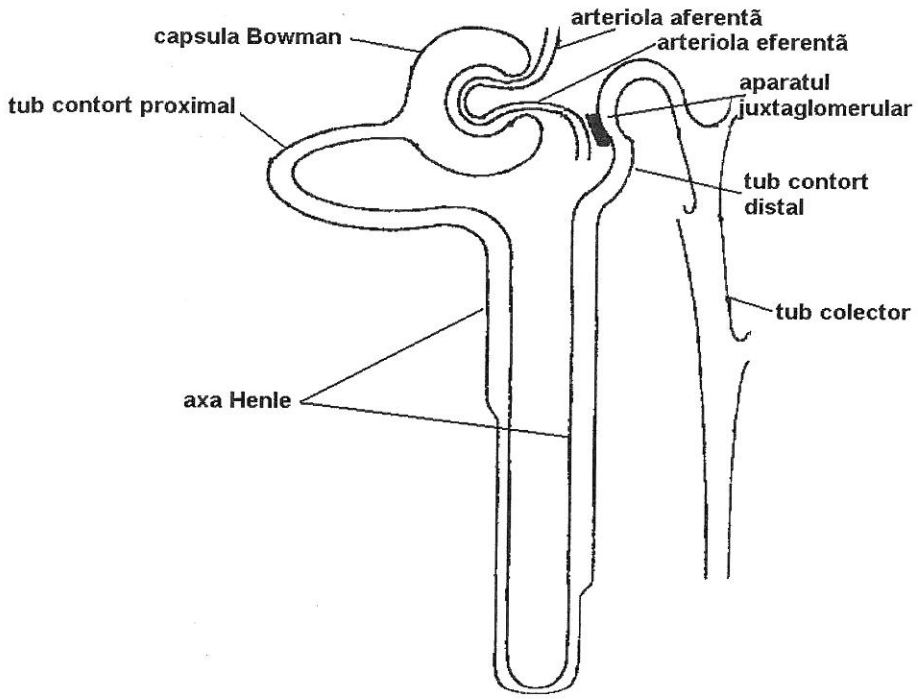


Fig. 14 - Nefronul

Tubul contort proximal

Capsula lui Bowmann se continuă cu tubul contort proximal. Acesta posedă un epiteliu de tip permeabil, ale cărui celule au o „margine în perie", alcătuită din microvili. Prin această dispoziție suprafața luminală este mărită de 60 de ori. Celulele alcătuiesc o rețea complexă deasupra membranei bazale. În vecinătatea membranei aceste celule posedă numeroase mitocondrii. În ansamblul structural sunt semnalate „canale de trecere" paracelulare. Substanțele ce sunt transportate prin procesele active, ATP dependente, iau calea trans celulară de reabsorbție, în timp ce alte substanțe (ionii de Cl^-) pot fi parțial reabsorbiți pe cale paracelulară. În acest segment sunt resorbite 60 - 70% din totalul apei şi electroliților, totalul de glucoză, aminoacizii, ureea, bicarbonații, fosfații, ionii de calciu şi sulfatul *(Fig. 15).*

Ansa Henle

Ansa Henle este segmentul intermediar, subțire, format din două brațe, unul descendent şi unul ascendent. Ramura descendentă are celule epiteliale sărace în mitocondrii şi microvili; în această porțiune are

loc transportul pasiv al apei şi al electroliților. În ramura ascendentă celulele epiteliale sunt bogate în mitocondrii, în această zonă având loc transportul activ al ionilor.

Tubul contort distal

Tubul contort distal este format dintr-o porțiune dreaptă, ascendentă, care ajunge la corticală în vecinătatea glomerulului propriu, în imediat contact cu arteriola aferentă. La acest nivel epiteliul tubular la fel ca şi celulele musculaturii netede a arteriolei aferente, prezintă modificări şi formează aparatul juxtaglomerular care secretă renină. Urmează o porțiune contortă situată în întregime în corticală. Mai mulți tubi distali se unesc şi se deschid în tubul colector din structura piramidelor Malpighi.

II.2. MECANISMUL FORMĂRII URINII

Principala funcție a rinichiului este de formare a urinii şi ea se realizează în trei etape: filtrare glomerulară, reabsorbție tubulară şi secreție tubulară.

1. Filtrarea glomerulară

Formarea ultrafiltratului glomerular din plasma sanguină este rezultatul proceselor fizice petrecute la nivelul glomerulilor, în urma cărora se formează urina primară. Ca urmare a filtrării se formează 120 - 140 mL urină primară/minut (aproximativ 180 L/24 ore) ceea ce face ca la un adult de 70 Kg lichidul extracelular să fie filtrat de 15 - 16 ori în decurs de 24 de ore. Acest proces depinde de proprietățile morfo-funcționale ale glomerulului, de o serie de factori extrarenali cât şi de participarea unor complexe mecanisme de reglare.

Filtrarea glomerulară se efectuează la nivelul porilor prezenți în stratul endotelial (lamina fenestrata) şi mai ales a celor din membrana bazală (lamina densa). Spațiilor dintre prelungirile pediculate ale celulelor epiteliale li se atribuie rol de pori care împiedică trecerea proteinelor plasmatice, permițând trecerea apei şi a moleculelor mici.

Din punct de vedere funcțional capilarul glomerular se prezintă ca o membrană semipermeabilă, care permite trecerea selectivă a moleculelor, în funcție de greutatea lor moleculară; astfel, insulina cu greutate moleculară 5 500 d trece în totalitate, ovalbumina (43 000 d) în proporție de 22%, hemoglobina (68 000 d) în proporție de 3% iar serumalbumina (69 000 d) sub 1%.

Dinamica filtrării glomerulare este condiționată de mai mulți factori, dintre care:

• Presiunea capilară intraglomerulară realizează filtrarea lichidului prin membrana capilară şi este evaluată la aproximativ 75 mmHg.

Rolul presiunilor intraglomerulare este de importanță primordială în formarea filtratului glomerular, modificările lor ducând la creşteri sau diminuări ale acestora. Dacă presiunea arterială scade sub 99 mmHg (în hipotensiuni arteriale mari) scade şi presiunea capilară intraglomerulară şi când aceasta scade la 30 mmHg, filtrarea glomerulară este total suprimată, instalându-se anuria.

• Presiunea osmotică a plasmei din capilarele glomerulare este în strânsă dependență de concentrația proteinelor plasmatice (în special a albuminelor) şi are valori de 200 mmHg la intrarea în glomerul şi peste 30 mmHg la ieşire.

• Presiunea din capsula Bowmann are valori de 5 - 10 mmHg şi este egală cu presiunea intrarenală. Fiind în permanență influențată de presiunile din interiorul căilor intrarenale şi a capilarelor intratubulare, prezintă cele mai mari variații.

Presiunea de filtrare (presiunea eficace de filtrare - PF) reprezintă presiunea care forțează lichidele să traverseze membrana glomerulară şi rezultă din interacțiunea conjugată a celor trei presiuni: capilară intraglomerulară (PG), oncotică (PO) şi din capsula Bowmann (PC) la care se adaugă şi presiunea intratubulară.

$$PF = PG - (PO + PC)$$

sau,

$$PF = 75 - (25 + 10) = 40 \text{ mmHg}$$

În funcție de aceşti parametri şi mai ales de oscilațiile mari ale presiunii intracapilare, se apreciază că presiunea eficace de filtrare are limite cuprinse între 20 - 40 mmHg, ceea ce permite o adaptare la modificările generale şi a celor din căile urinare.

Reglarea filtrării glomerulare se efectuează atât prin mecanisme extrarenale cât mai ales prin mecanisme intrarenale (autoreglare) care îi conferă acestui organ o anumită independență hemodinamică.

Mecanismele extracelulare sunt reprezentate de oscilațiile tensiunii arteriale, de compoziția sângelui, de factorii hepatici, azotemie extrarenală, activitate cardiacă, factori endocrini şi neurovegetativi.

Mecanismele intrarenale realizează de fapt autoreglarea prin presiunile diferite de la nivelul subunităților funcționale ale nefronului şi prin participarea sistemului renină-angiotensină.

Tulburarea filtrării glomerulare

În urma alterării factorilor care participă la procesul filtrării glomerulare, cum sunt: presiunea din capilarele glomerulare, presiunea coloidosmotică, presiunea din capsula Bowmann şi permeabilitatea membranei filtrante, au loc o serie de modificări cantitative şi/sau calitative ale urinii primare.

Tulburări cantitative ale filtrării glomerulare. Cu toate că există un mecanism de autoreglare al circulației renale, variația presiunii arteriale sistemice peste anumite limite poate duce la modificarea ratei de filtrare glomerulară. Astfel, hipotensiunea arterială duce la scăderea filtrării glomerulare, uneori până la anurie.

Presiunea coloidosmotică a sângelui este afectată în special prin scăderea valorilor sale, situație întâlnită în toate hipoproteinemiile secundare unor pierderi excesive (hemoragii, arsuri, şocuri), unui aport insuficient proteic, şi a unor deficiențe de sinteză (hepatite, mielom multiplu, boală canceroasă).

Influența presiunii oncotice a fost demonstrată experimental prin injectarea intravenoasă de polivinilpirolidon care este capabil să întrerupă filtrarea glomerulară.

Modificările inflamatorii din glomerulonefrita acută au adesea drept urmare o reducere intensă a filtrării glomerulare, în timp ce fluxul renal este normal sau crescut.

În unele forme de insuficiență renală acută oligoanuria este expresia scăderii ratei de filtrare glomerulară, dar intervine şi necroza epiteliului tubular, care devine o membrană nefuncțională de difuziune pasivă, ce resoarbe în totalitate ultrafiltratul glomerular.

Orice deshidratare globală duce la diminuarea ratei de filtrare şi oligoanurie. Se poate spune că mecanismele glomerulare ale oliguriei sunt reprezentate fie de scăderea fluxului renal şi a filtrării glomerulare, fie de alterări morfologice ale membranei filtrante.

Presiunea din capsula Bowmann poate fi influențată de existența unor obstacole pe căile inferioare urinare (tumori, calculi etc.), situație în care aceasta creşte peste 15 mmHg, fapt ce reduce presiunea eficace de filtrare şi scade astfel filtratul glomerular.

Tulburările calitative ale filtratului glomerular

Apariția acestor tulburări este condiționată mai ales de alterările morfologice ale membranei glomerulare. Membrana filtrantă glomerulară îşi modifică proprietățile morfologice în cursul nefritelor, nefrozelor, bolilor

alergice, toxice etc., astfel că din semipermeabilă selectivă devine permeabilă, fapt ce permite trecerea proteinelor serice sau chiar a sângelui (proteinurie, hematurie).

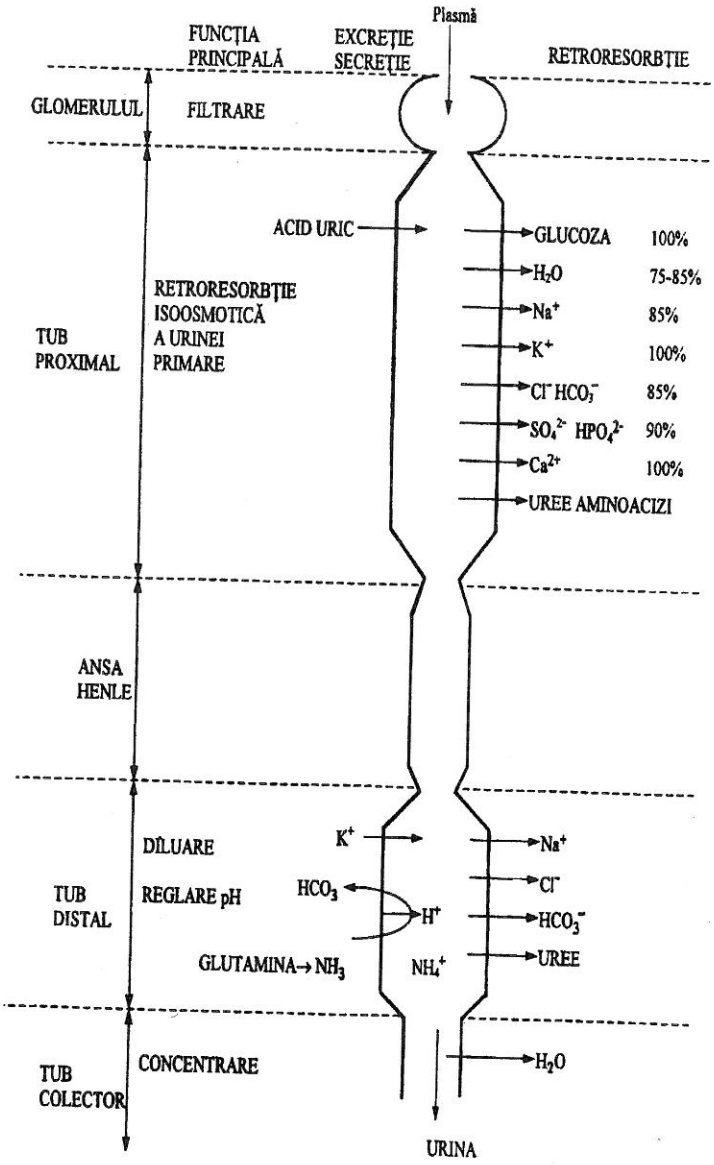


Fig. 15 – Schema sintetică a funcțiilor renale

2. Reabsorbția şi secreția tubulară

Din cei aproximativ 180 L urină primară formați în decurs de 24 ore, rezultă 1 - 1,5 L urină definitivă, ca urmare a proceselor de reabsorbție şi secreție petrecute la nivelul tubului urinifer.

În primul segment, tubul contort proximal, se reabsoarbe cea mai mare parte din filtratul glomerular: apa, Na^+, Ca^{2+}, K^+, glucoza, aminoacizii, ureea. Apa şi substanțele dizolvate se resorb în proporții echivalente, iar lichidul tubular rămâne izoosmotic cu plasma.

Segmentul descendent şi ascendent a ansei Henle asigură procesul de concentrare a urinii prin procese osmotice şi electrochimice, în cea mai mare parte active.

Tubul contort distal şi tubul colector definitivează procesul de diluție şi concentrare a urinei: aici se absoarbe apa, sodiul, bicarbonații şi are loc secreția de H^+, K^+ şi a amoniacului.

Activitatea tubulară are la bază două tipuri de mecanisme: activ şi pasiv.

a) Transportul activ se desfăşoară cu consum de energie fie în prezența unui substrat transportor, a unui „cărăuş" care transferă anumite substanțe prin celula tubulară de la polul urinar spre cel vascular şi invers (mecanism de tip A), fie prin intermediul unui sistem de „pompă aspiratoare-respingătoare" care transferă alte substanțe împotriva unor gradiente de concentrație osmotică sau electrochimică (mecanism tip B).

Conform primei teorii în membrana polului luminal al celulelor tubulare s-ar afla câte un substrat transportor („cărăuş"), specific pentru glucoză, aminoacizi, proteine, acid uric, fosfați etc. Sub influența enzimelor s-ar forma un complex transportor-substanță de transport, care este transferat la polul opus celulei tubulare. Aici, substanța transportată este cedată, iar substratul transportor difuzează de-a lungul unui gradient de concentrație înapoi la polul de origine. Conform aceleiaşi teorii, capacitatea de transport a „cărăuşului" fiind fixă, cantitatea de substanță transportată nu poate depăşi un anumit volum pe unitate de timp. Există deci o capacitate maximă de transport pentru o substanță dată (Tm = transport maxim).

Cel de-al doilea mecanism de transport activ, de tip B, specific pentru resorbția de Na^+, HCO_3^- etc şi secreția de K^+ şi H^+, se realizează împotriva unor gradiente de presiune osmotică şi electrochimică. Energia utilizată este necesară menținerii gradientului electrochimic al activității pompelor active de Na^+ şi K^+ prezente la nivelul tuturor segmentelor nefronului. În acest caz cantitatea de substanță transportată nu depinde de un „cărăuş", ci de substanța care se resoarbe sau se secretă.

O caracteristică a substanțelor resorbite activ este existența așa-numitului *„prag de eliminare"*, adică a unei concentrații sanguine a substanței respective, sub care nu are loc eliminarea sa prin urină. Exemplul de substanță cu prag de eliminare este glucoza, care nu trece în urină decât după ce concentrația sanguină depășește 150 - 180 mg%. Acest prag pentru glucoză crește cu vârsta. În această categorie de substanțe cu prag de eliminare, pe lângă glucoză, mai fac parte, după cum am amintit, și aminoacizii, ionii de Na^+ și K^+.

b) Transportul pasiv. În acest mod se reabsoarbe în tubul contort proximal 3/4 - 4/5 din apa ultrafiltratului glomerular, precum și ionii de Cl^- în tubul contort proximal, distal și în ansa ascendentă Henle.

Există substanțe care nu sunt resorbite în tub, nici activ, nici pasiv și care *nu au prag de eliminare*. Ele sunt doar filtrate, așa cum este cazul creatininei endogene ce nu apare în lichidul de resorbție.

Prin secreția tubulară se produc la nivelul tubilor substanțe ce apar în urină, fără ca ele să fi existat în ultrafiltratul glomerular sau sunt prezente într-o concentrație mai mare. Din prima categorie face parte acidul hipuric, iar din cea de-a doua K^+ și H^+.

Secreția ionilor de H^+ în tubul contort distal și în cel colector se efectuează activ împotriva unui gradient de concentrație. Această secreție contribuie, pe de-o parte, la recuperarea ionilor de sodiu, iar pe de altă parte, la eliminarea valențelor acide din organism, procese care asigură menținerea în limite normale a pH-ului sanguin. Concomitent, secreția H^+ se află la baza procesului de acidifiere a urinii. Ionii de H^+ devin disponibili în celula tubulară sub infuența anhidrazei carbonice care convertește CO_2 și H_2O în acid carbonic. Acesta se disociază în H^+ și HCO_3^-. Schimbul ionic între H^+ și Na^+ se face fie în procesul reabsorbției carbonatului acid, fie prin transformarea fosfatului disodic în lumenul tubular în fosfat monosodic.

$$Na_2HPO_4 + H^+ = NaH_2PO_4 + Na^+$$

Astfel, un ion de Na^+ este reabsorbit în schimbul unui ion de H^+ care se elimină prin urină sub formă de fosfat monosodic. Ionul de Na^+ se combină cu ionul HCO_3^- și trece în sânge sub formă de carbonat acid de sodiu, iar fosfatul diacid se elimină prin urină. Aceste schimburi se fac sub acțiunea fosfatazei renale și contribuie la economisirea ionilor de Na^+ și la eliminarea surplusului de acizi din organism prin acidifierea urinii.

Dar secreția ionilor de H^+ se face limitat. Când pH-ul urinar a ajuns la 4,5 - 4,8 transportul ionilor de H^+ se sistează, acumulându-se în organism și producând acidoză.

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
BIBLIOTECA NR. 2 CLINIC
Nr. de inventar 10.196
Cotă: M 39.766
CRAIOVA
RMF 112/2010

Secreția activă a ionilor de K^+ începe în tubul distal şi se accentuează în tubul colector, în schimbul reabsorbției ionilor de Na^+. Schimbul ionic între Na^+ şi K^+ se realizează în urma modificărilor gradientului lor de concentrație, prin intermediul unui sistem de pompă Na^+ - K^+, care reabsoarbe Na^+ din tubi şi elimină din celulă în urină ionii H^+ şi/sau K^+.

Creşterea concentrației de K^+ în sânge (alcaloză) care induce creşterea secreției sale tubulare distale, inhibă secreția ionilor de H. Ca urmare se elimină valențele alcaline în schimbul reținerii H^+, fenomen urmat de scăderea pH-ului mediului intern, readucându-l la normal. Scăderea concentrației K^+ sanguin (acidoză) induce scăderea secreției sale tubulare, ducând la eliminarea crescută a H^+, ceea ce conduce la restabilirea pH-ului normal.

Renina este o glicoproteină cu greutate moleculară 42 000 d. În plasmă acționează asupra unei glicoproteine din fracțiunea $alfa_2$-globulinică (formată în ficat), numită angiotensinogen, din care se desprinde un decapeptid, angiotensina I. Sub acțiunea unei enzime de conversie, legătura histidil-leucină este ruptă şi se formează angiotensina II, un octapeptid biologic activ cu acțiune hipertensivă şi eliberatoarea de aldosteron *(Fig. 16).* Ca urmare se produce vasoconstricția arteriolei aferente şi scăderea filtrării glomerulare. Adaptarea ratei filtrării glomerulare, în raport cu capacitatea de reabsorbție tubulară, limitează pierderile hidrosaline şi contribuie la conservarea volumului lichidelor extracelulare.

Rinichiul are o importantă capacitate de autoreglare care acționează în corelație cu mecanismele de reglare neurovegetative şi endocrino-umorale. Controlul fiziologic al excreției urinare reprezintă în realitate un fenomen complex, în care intervin un mare număr de factori, care efectuează filtrarea glomerulară şi reabsorbția tubulară a apei şi sării. Se cunosc relații strânse între filtrarea glomerulară şi activitatea tubulară, constituind aşa-zisul echilibru glomerulo-tubular. În acest proces de reglare sunt implicați în special tubul proximal şi segmentul tubular distal.

Autoreglarea funcțiilor renale

Cu toate variațiile filtrării glomerulare, rinichiul îşi păstrează capacitatea de a regla mărimea excreției de apă şi solviți în funcție de ingestie. În acest sens intervine mai ales modificarea reabsorbției proximale, care diminuă când scade filtrarea glomerulară şi, invers, creşte o dată cu creşterea filtrării glomerulare.

În autoreglarea funcțiilor renale, mai intervine şi sistemul feed-back tubulo-glomerular. În această autoreglare acționează osmolaritatea

tubului distal, dar mai ales concentrația sa în sodiu. Creşterea concentrației osmolare şi a sodiului activează local, intrarenal, sistemul renină-angiotensină.

Reglarea neuro-endocrină

Mecanismele endocrino-umorale de reglare asigură, în special, adaptarea funcțiilor tubulare la modificări cantitative şi calitative ale mediului intern şi sângelui.

Aldosteronul este principalul hormon care controlează excreția şi economisirea sodiului şi potasiului. La nivelul nefronului acțiunea aldosteronului se exercită asupra segmentului terminal al nefronului. Aldosteronul activează reabsorbția sodiului şi eliminarea potasiului, prin schimburi ionice între Na^+, pe de o parte, şi K^+ şi H^+, pe de altă parte. Aldosteronul stimulează de asemenea eliminările urinare ale Mg^{2+}, Ca^{2+}, NH_4^+ şi H^+, contribuind astfel la acidifierea urinii.

Hormonul antidiuretic (ADH), elaborat de sistemul hipotalamoneurohipofizar, asigură reabsorbția facultativă a apei la nivelul tubului distal şi colector. La nivelul rinichiului, ADH-ul acționează prin creşterea permeabilității pentru apă a tubului distal şi colector. Sub acțiunea ADH-ului se produce resorbția apei, ducând la formarea unei urini cu osmolaritate ridicată şi volum redus. În absența ADH-ului tubul distal şi colector devin aproape impermeabili pentru apă şi se elimină o urină foarte diluată şi în cantitate mare.

Parathormonul (PTH) acționează la nivelul tubului proximal şi distal influențând reabsorbția sodiului, calciului şi fosfatului. Reabsorbția calciului este stimulată, în timp ce, a sodiului şi fosfatului este diminuată.

Alți agenți umorali pot influența, de asemenea, activitatea nefronului. Există aşa zişii „hormoni tisulari" care au acțiune asupra circulației intrarenale şi a tubilor. Astfel, *kalicrein-bradichinina* are acțiune vasodilatatoare şi intervine în echilibrul hidro-mineral.

Prostaglandinele. Funcția renală este afectată semnificativ şi de către prostaglandine, a căror acțiuni inhibitorii asupra formării reninei sunt cunoscute. Sub raport fiziologic sunt considerate hormoni cu efect reglator local. Injectarea acestora intraarterial modifică filtrarea renală, măresc debitul sanguin renal, realizând creşterea excreției de apă şi sodiu. Fiind în zona medulară a rinichiului, prostaglandinele din seria A şi E par a îndeplini rol fiziologic de factori antihipertensivi în reglarea tensiunii arteriale, alături de sistemul renină-angiotensină, vasoconstrictor şi hipertensiv. În felul acesta, funcția endocrină a rinichiului n-ar fi limitată la secreția de renină de către zona corticală, ci ar fi dublată de rolul antihipertensiv al prostaglandinelor (medulinei) secretată de zona sa medulară.

Mai pot interveni în reabsorbția tubulară a sodiului şi diverşi alți agenți hormonali. Astfel, cortizolul, estrogenii, somatotropul hipofizar şi insulina pot creşte reabsorbția sodiului, în timp ce glucagonul şi progesteronul o pot diminua.

Fiziopatologia tubilor renali

Tulburările funcției tubului urinifer se referă atât la reabsorbție cât şi la excreție-secreție, dar în majoritatea cazurilor aceste procese sunt asociate.

Disfuncțiile tubului proximal privesc transportul tubular al diferitelor substanțe, în timp ce disfuncțiile tubului contort distal, se referă în special la perturbarea eliminării urinare a potasiului, a mecanismului de concentrare şi diluare a urinii.

Tulburările mecanismului de diluție şi concentrare a urinii. Diluția şi concentrarea urinară reprezintă funcția prin intermediul căreia se realizează fie economisirea de electroliți (procesul de diluție) fie economisirea de apă (procesul de concentrare urinară). Economisirea de electroliți în procesul de diluție se realizează prin eliminarea excesului de apă cu cantități mici de electroliți. Economisirea de apă prin procesul de concentrare urinară se realizează datorită eliminării excesului de electroliți cu cantități mici de apă.

Dar atât capacitatea renală de concentrare, cât şi cea de diluție sunt limitate. În aport foarte scăzut de lichide se va elimina o cantitate mică de urină, foarte concentrată, iar în aport foarte crescut de lichide se va elimina un volum mare de urină cu concentrație scăzută. În condiții normale, urinile eliminate în volum redus au o osmolaritate ridicată, corespunzând la aproximativ de 5 ori valoarea celei plasmatice iar în urinile diluate valoarea osmolarității este 1/5 din cea plasmatică.

Mecanismele care fac posibilă diluția şi concentrarea urinii depind de activitatea diferențiată a segmentului tubului urinifer, de particularitățile irigației sanguine peritubulare şi a țesutului interstițial, toate formând o unitate morfofuncțională. Ea poate fi tulburată datorită:

- deficitului de secreție de ADH (diureza apoasă - diabetul insipid)
- deficitul de secreție de ADH secundar unei ingestii masive de apă (polidipsie psihogenă);
- lezării diferitelor segmente tubulare care intervin în mecanismul de concentrare a urinii;
- nereceptivității funcționale a tubilor contorți distali şi colectori datorită unor leziuni biochimice congenitale (diabet insipid nefrogen) şi organice difuze (boli renale cronice şi în particular pielonefrite cronice, uropatii obstructive, nefrite interstițiale cronice).

Indiferent de volum, urina poate, prin tulburarea mecanismului de diluție şi concentrare, să prezinte abateri de la concentrația normală a sărurilor minerale şi organice pe care le conține.

Deci un defect de concentrare a urinii semnalează posibile alterări morfologice ale ansei Henle, ale tubului contort distal şi ale tubului colector cu eventuală lipsă de răspuns la acțiunea ADH.

Alterarea cantitativă a volumului urinar definitiv se datoreşte creşterii reabsorbției tubulare a clorurii de sodiu şi a apei, secundară hipersecreției de aldosteron şi ADH şi constituie unul din principalele mecanisme ale oliguriei, care se instalează în unele stări edematoase.

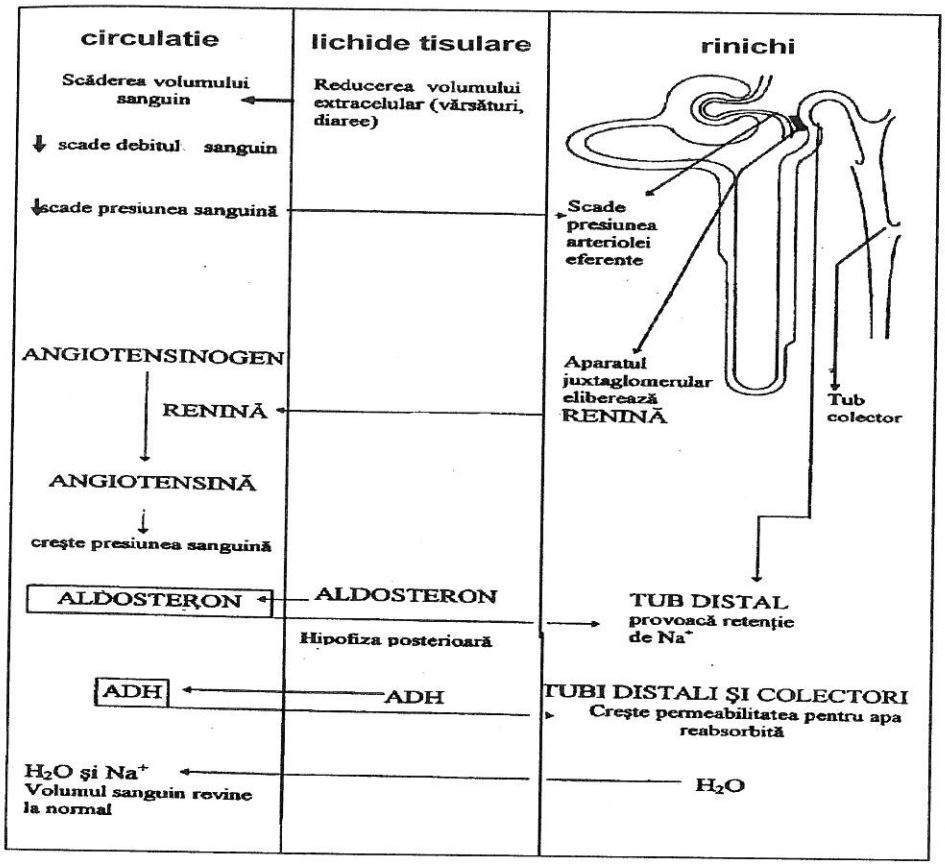


Fig. 16 - Reglarea echilibrului hidric

II.3. ANALIZA URINII

Metodele de explorare a rinichilor au la bază evaluarea funcțiilor cu ajutorul cărora acest organ îşi îndeplineşte rolul său în menținerea homeostaziei mediului intern.

Rinichiul, în condiții normale, elaborează o urină care reflectă starea fiziologică a organismului.

Alterarea funcțiilor renale se traduce prin incapacitatea rinichiului de a păstra homeostazia mediului intern. În aceste condiții se pot modifica proprietățile fizico-chimice ale urinii, apărând diferite substanțe cu semnificație patologică.

Recoltarea urinii

În vederea efectuării unui examen de urină este necesar ca aceasta să fie corect recoltată şi conservată.

Recoltarea probelor de urină se face în funcție de felul analizei.

Pentru recoltarea sumarului de urină se recoltează prima urină de dimineață într-un vas curat, la bărbați, în special la cei în vârstă, în ortostatism, iar la femei după o perfectă toaletă vaginală. Recoltarea urinii prin sondaj se va face numai în cazuri de strictă necesitate (adenom de prostată) şi în condiții de perfectă sterilitate.

Analiza se poate efectua şi pe urina de 24 de ore pentru determinări cantitative. În acest scop recoltarea urinii se face astfel: prima urină de dimineață se aruncă, se recoltează apoi urina din 24 de ore cu excepția urinii de a doua zi dimineața care se recoltează în vas separat şi pe aceasta se va determina sumarul de urină.

În cazul în care se lucrează pe urina din 24 ore este necesar să se adauge un conservant (timol 1 - 2 g, cloroform sau xilen 5 - 10 mL).

Dacă se determină glicozuria sau acetonuria se evită adăugarea cloroformului.

Pentru a determina glicozuria şi pentru monitorizarea bolnavilor cu diabet zaharat se recoltează urina timp de două ore, după masă.

Pentru dozarea urobinogenului se recoltează urina emisă pe o perioadă de 2 ore.

Caracterele generale fizice şi chimice ale urinii

În condiții normale în urina din 24 ore se elimină aproximativ 35 g substanțe organice şi 25 g substanțe minerale. Alături de acestea în condiții speciale sau patologice mai pot apare: medicamente, metaboliți ai acestora sau o serie de elemente patologice.

Volumul urinar

Volumul de urină emis în 24 ore este cuprins între limite destul de largi şi depinde de cantitatea de lichide ingerate, de pierderile de apă

prin transpirație, de temperatura mediului ambiant, activitatea fizică, de stările psihice.

Volumul de urină/24 ore variază şi cu vârsta astfel:

copii	1 - 2 zile	30 - 60 mL
copii	10 - 60 zile	250 - 450 mL
copii	2 - 12 luni	400 - 500 mL
copii	3 - 5 ani	600 - 700 mL
copii	5 - 8 ani	650 - 1000 mL
copii	8 - 14 ani	800 - 1400 mL
adulți şi copii peste 14 ani		1000 - 1600 mL.

Cantitatea de urină variază şi cu sexul: la bărbați: 1 500 – 2 000 mL/24 ore; la femei: 1 200 – 1 700 mL/24 ore.

Variații de volum ale diurezei. Ele sunt rezultatul unui dezechilibru glomerulo-tubular, adică a unui dezechilibru între filtrarea glomerulară şi reabsorbția tubulară a apei. Acest dezechilibru poate duce la creşterea (poliurie), scăderea (oligurie) sau suspendarea (anurie) diurezei.

Poliuria. Cantitatea de urină mai mare de 2500 mL/24 ore constituie poliuria. Poliuria se instalează datorită următoarelor mecanisme:

- creşterea filtratului glomerular (poliurie glomerulară);
- reducerea reabsorbției obligatorii proximale (poliurie tubulară);
- reducerea reabsorbției facultative la nivelul tubului distal şi colector (poliuria distală).

Creşterea cantitativă a filtratului glomerular (diureza glomerulară sau de filtrare) poate fi:

- fiziologică: datorită ingestiilor crescute de lichide, frig, emoții (prin eliminări crescute de adrenalină), administrări de diuretice;
- patologică: în hipertiroidie sau în caz de insuficiență cardiacă după administrarea de digitală. Tot aici se încadrează poliuriile survenite după terminarea crizelor dureroase în angina pectorală, după tahicardiile paroxistice, colica renală, crizele comițiale datorită unor dereglări neurovegetative şi poliuriile de cauze extrarenale. Această categorie se referă la bolile care în cursul evoluției lor rețin apa, eliminată apoi spontan după o administrare de diuretice, cum sunt: edeme, insuficiențe cardiace, boli infecțioase etc.

Reducerea reabsorbției proximale de apă se datoreşte prezenței în lumenul tubilor a unui exces de substanțe osmotic active (glucoză, uree), sau datorită unor leziuni tubulare. În acest caz urina nu este niciodată hipotonă.

Reducerea reabsorbției la nivelul tubilor distal şi colector este consecința scăderii concentrației serice de ADH. Ea poate fi datorată diminuării secreției de ADH sau unor leziuni hipofizare (diabetul insipid).

În cazul diabetului insipid nefrogen segmentul distal al tubului urinifer nu este receptiv la acțiunea ADH (congenital sau dobândit).

Aceasta se poate datora unor ingestii crescute de apă pe perioade prelungite sau prin leziuni la nivelul acestor celule (pielonefrită cronică, hidronefroză).

În aceste cazuri avem o diureză apoasă, urina este hipotonă.

Oliguria se caracterizează prin elaborarea unei cantități de urină de 700-800 mL/zi în cazul *oliguriei moderate* sau cu valori în jur de 500 mL/zi în *oliguria severă*. Oliguria poate fi fiziologică, în caz de ingestie scăzută de lichide sau pierderi crescute prin transpirație. Patologic ea este rezultatul unui dezechilibru glomerulotubular de tip invers celui care produce poliurie: reabsorbția tubulară depăşeşte filtrarea glomerulară. Deci oliguria poate fi produsă fie de reducerea filtratului glomerular, fie de creşterea reabsorbției tubulare a apei.

1. Reducerea filtratului glomerular este cauzată de obicei de scăderea presiunii intracapilare şi este cunoscută ca insuficiență circulatorie renală. Ea poate fi dată de: reducerea debitului cardiac, în insuficiența cardiacă, hemoragii mari, hipotensiuni arteriale, deshidratări gastrointestinale, pancreatite acute, ulcer peptic perforat, hemoliză intravasculară.

Oliguria poate fi produsă şi de maladii renale, cum sunt: o insuficiență renală prelungită, glomerulonefrite acute.

Oliguria produsă de obstrucții intra- sau extrarenale este mai rar întâlnită şi poate fi produsă de:

- obstrucții intrarenale cu blocarea tubilor cu hemoglobină, mioglobină, urat sau calciu, şi
- obstrucții extrarenale date de calculi, neoplasm, stricturi sau hipertrofie prostatică.

Este o problemă diferențierea oliguriei cauzate de insuficiența circulatorie renală de cea dată de maladii renale.

Oliguria renală urmează adesea după o reducere a filtrării glomerulare şi insuficiență circulatorie renală cu o scădere a presiunii intraglomerulare şi cu formarea de edeme. În aceste situații concentrația unor constituenți în plasmă ca ureea, creatinina, va creşte.

2. Creşterea reabsorbției tubulare a apei poate fi produsă de:

- leziuni tubulare care permit reabsorbția neselectivă a filtratului glomerular
- exces de aldosteron circulant, prin diminuarea aportului de apă.

În funcție de valorile densității urinii ea pote avea densitate crescută (indicând o funcție renală bună) sau scăzut (indicâd o funcție deficitară).

Anuria se consideră în cazul în care bolnavul elimină sub 150 mL/24 ore. Cauzele anuriei sunt în principiu cele ale oliguriei, uneori de intensitate mai mare.

Semnificația prezenței anuriei este de IRA.

Nicturia se defineşte ca eliminarea în cursul nopții a unei cantități de urină mai mare de 1/3 din diureza totală. Ea apare în stări patologice renale (IRC) sau extrarenale (insuficiență cardiacă, ciroză hepatică, după administrare de diuretice şi frecvent la bolnavii cu HTA).

Opsuria se defineşte ca eliminarea renală întârziată a lichidelor ingerate. În mod normal 80% din cantitatea de lichide ingerate se elimină prin urină în primele 4 ore de la ingestie. Apariția sa ține de alterări în procesul de absorbție, transport şi distribuție a apei (boli hepatice, endocrine, intestinale şi mai puțin de afectarea eliminării renale (insuficiență renală şi glomerulonefrită acută).

Aspectul

Urina normală trebuie să fie limpede, transparentă. O urină tulbure în momentul emisiei poate conține: săruri (urați, oxalați, fosfați sau carbonați), mucus, puroi, epitelii, microbi.

Uneori după micțiune, prin răcirea urinii apare un nor numit „nubeculum", alcătuit din mucus şi celule epiteliale descuamate. Acesta nu prezintă semnificație patologică.

Dacă după micțiune urina este tulbure, aceasta se poate datora fie prezenței în cantitate mare a unor săruri, fie prezenței puroiului în cazul infecțiilor urinare.

Pentru a stabili care este cauza prezenței opalescenței se fac următoarele determinări:

- prin încălzirea urinii dispar uraţii (cu excepția celor de amoniu);
- încălzirea cu adăugare de câteva picături de acid acetic dizolvă fosfații, uraţii, carbonații;
- prin adăugarea de soluții de HCl 12,5% se dizolvă oxalații.

Dacă opalescența nu dispare nici la încălzire, nici la adăugare de acid acetic, înseamnă că este prezent puroiul, celule epiteliale, microorganisme. În acest caz urina va prezenta un miros neplăcut, un pH alcalin, iar în sediment vor apare numeroase leucocite.

Culoarea

Urina normală prezintă o culoare galben-deschis până la galben-auriu datorită prezenței unor pigmenți ca: urocromul, urobilina şi porfirina. Dintre aceştia urocromul reprezintă factorul principal de colorare. Culoarea urinii depinde şi de concentrația şi de natura substanțelor dizolvate în ea. Astfel, prima urină de dimineață fiind mai

concentrată are o culoare mai închisă. Culoarea galben-închis mai prezintă şi urinile după afecţiuni febrile acute sau transpiraţii profuze.

O urină incoloră sau aproape incoloră întâlnim în: diabetul insipid, diabetul zaharat, scleroza renală, faza poliurică a insuficienţei renale acute.

Culoarea brun-verzui în afecţiuni hepato-colecistice; roşu-brun în prezenţa eritrocitelor, hemoglobinei, methemoglobinei sau mioglobinei, după ingestia unor medicamente (amidopirina); brun-închis în alcaptonurie, melanosarcoame sau ictere; verde după ingestia de albastru de metilen. Urina care conţine grăsimi în cantitate mare are aspect opalescent.

Mirosul

Mirosul urinii normale este „sui generis". El se poate schimba în cursul infecţiilor urinare când este amoniacal, în stări de acidoză şi diabet zaharat miros de acetonă. Mirosul poate fi modificat şi prin ingestia unor alimente ca: sparanghel, usturoi, hrean sau prin administrarea de substanţe ca eucaliptol, terebentină etc.

Densitatea

Densitatea urinară are valori dependente atât de factorii fiziologici cât şi patologici, fiind invers proporţională cu volumul, cu excepţia urinii provenite de la diabetici care au poliurie şi elimină în acelaşi timp cantităţi mari de glucoză. Limitele normale sunt cuprinse între 1015 - 1030 - normostenurie - fiind dependente de cantitatea de substanţe dizolvate.

În condiţii patologice, rinichiul poate pierde capacitatea de concentrare cu scăderea densităţii - *hipostenurie* (diureză apoasă) caracterizată prin elaborarea unei urini cu o concentraţie mai mică decât a plasmei aşa cum se întâlneşte în hiperhidratări, diabet insipid, insuficienţă renală acută (reluarea diurezei), insuficienţă renală cronică (faza compensată). Pierzând apoi şi capacitatea de diluare, densitatea urinii oscilează în jurul valorii 1010 *(Fig. 17)* - *izostenurie* - corespunzătoare densităţii sângelui dezalbuminat, întâlnită în insuficienţa renală cronică.

Hiperstenuria este caracterizată prin elaborarea unei urini cu o concentraţie foarte mare, peste 1035, întâlnită în deshidratări, diabet zaharat, după administrări de substanţe de contrast, hipercalciurii.

Densitatea poate fi măsurată prin următoarele procedee: cu picnometrul (balanţa Mohr-Westphal) sau în practica obişnuită cu urodensimetrul (areometrul special) gradat pentru intervalul 1000 - 1040, calibrat la temperatura de 15°C. Dacă temperatura urinii diferă de aceea de calibrare se face o corecţie, numai dacă diferenţa de temperatură în plus sau în minus, depăşeşte 3°C.

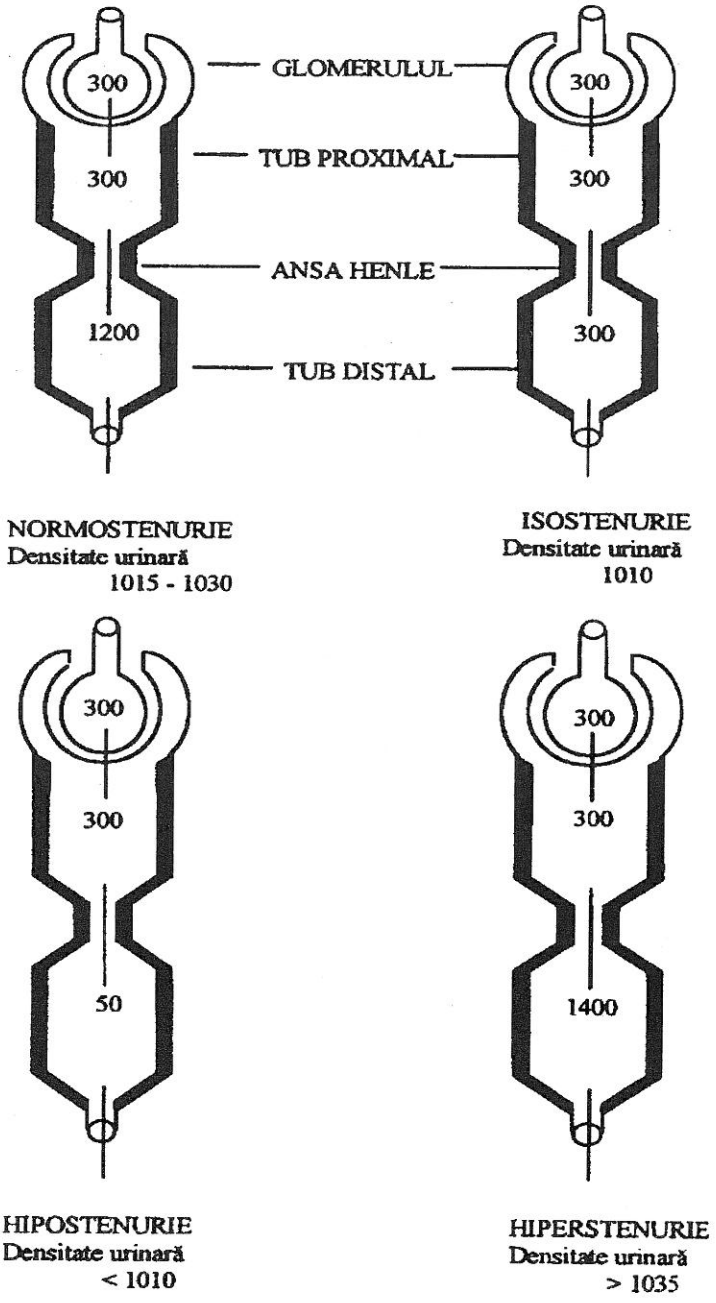


Fig. 17 – Variația densității urinare

Reacția urinii

Reacția urinii (pH-ul) se determină pe urina proaspătă care are în general o reacție slab acidă, 5,0 - 7,0.

Reacția urinii depinde de alimentație. Un regim bogat în proteine scade pH-ul urinar, iar un regim predominant vegetarian creşte pH-ul.

Pentru determinarea pH-ului, în mod curent se utilizează hârtia indicator sau soluțiile indicatoare. În cazul unei explorări mai profunde se poate determina aciditatea titrabilă cu ajutorul soluției de NaOH N/10 în prezența fenolftaleinei; valori normale: 11,7 ± 4,8%.

În condiții patologice pH-ul urinar se modifică. El devine puternic acid în cursul diabetului, insuficienței renale grave şi puternic alcalin în: infecții urinare, după vărsături, în perioadele de reabsorbție a edemelor.

Compoziția chimică a urinii normale

Urina conține în compoziția sa normală atât substanțe anorganice cât şi organice.

Prezența acestor componente în urină dă posibilitatea de investigare a ritmului de eliminare a sărurilor şi a produşilor finali, putându-se urmări echilibrul hidro-mineral şi metabolismul intermediar.

Electroliții urinari

În urina normală se elimină atât cationi: Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+}, cât şi anioni: Cl^-, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}.

Clorul se găseşte în urină sub formă de cloruri, mai ales sub formă de NaCl, care are un prag de eliminare foarte ridicat, 340 mg la 100 mL ultrafiltrat. Concentrația ionilor de clor urinar este hotărâtă de regimul alimentar. Indiferent de aportul de cloruri, organismul va păstra în sânge valorile clorurilor constante, fiind afectată numai eliminarea. În regim declorurat resorbția tubulară fiind aproape completă, eliminarea de Na Cl este efectiv anulată. Eliminarea poate fi influențată şi de aportul hidric şi de exercițiul muscular. În mod normal urina din 24 de ore conține 10 - 15 g NaCl.

- *valori crescute* se întâlnesc în regimuri hiperclorurate, în insuficiența suprarenală, nefropatii tubulare sau interstițiale etc.

- *valori scăzute* ale clorului urinar se întâlnesc în retenții tisulare, când alături de apă este reținut şi NaCl, nefrite, transpirații excesive, vomă, diaree, maladii cardiace, dietă fără sare.

Determinarea în laborator se efectuează argentometric prin precipitarea ionilor de clor cu o sare de argint. Excesul de $AgNO_3$ dă cu cromatul de potasiu folosit ca indicator, cromat de argint de culoare roşie, care indică sfârşitul reacției. Se mai determină cu azotat mercuric, când se formează clorura mercurică insolubilă. Excesul de azotat mercuric cu difenilcarbazona formează un complex colorat în violet.

Fosforul se găseşte în urină în proporție de 95% sub formă de fosfat mineral şi 1 - 5% sub formă de combinații organice.

Fosfatul mineral se poate găsi sub formă de fosfați mono- şi disodici, fosfați de potasiu şi de amoniu, fosfați alcalino-pământoşi, de calciu, de magneziu.

Fosforul urinar are o dublă proveniență, atât exogenă (alimentară) cât şi endogenă, din degradările fosfolipidelor şi a nucleoproteinelor. La un om adult se elimină prin urină 2 - 3 g în timp de 24 de ore exprimat în anhidridă fosforică (P_2O_5). Există o legătură strânsă între eliminarea fosforului şi cea a calciului. Starea de acidoză favorizează eliberarea acidului fosforic de origine protidică şi eliminarea sa urinară.

Excreția de fosfor *creşte* şi în unele afecțiuni osoase ca osteomalacia, în hiperparatiroidie, leucoză, crize epileptice.

- *hipofosfaturie* se întâlneşte în nefritele sclerogene, sindroame însoțite de creşterea fosforului sanguin.

Determinarea în laborator a fosforului se bazează pe precipitarea fosforului urinar la cald cu o soluție cu titru cunoscut de azotat de uranil în absența acizilor minerali.

Sulful se elimină în urină sub trei forme: sulf anorganic ca sulfat de sodiu, potasiu, calciu, amoniu; sulf esterificat sau sulfoesteri, format din săruri de Na sau K ale acidului indoxilsulfuric (indicanul urinar) şi sulf neutru, reprezentând sulful din aminoacizii cu sulf (cisteină, metionină), acizii mercaptopurinici, precum şi produşi ai catabolismului lor.

Sulful are o dublă proveniență: sulful de origine exogenă, care este în cantitate mică, majoritatea fiind de proveniență endogenă şi provenit din oxidarea sulfului cisteinic sau metioninic.

Sulful se elimină aproape constant zilnic (3 g/24 ore), provenind în majoritate din sulful endogen (deoarece sulfoconjugarea este unul din mecanismele de detoxificare a organismului).

- sulful total este *crescut* în: TBC intestinal iar cel organic în bolile însoțite de autoliză celulară: cancer, TBC evolutiv.

Determinarea în laborator se face după hidroliza cu HCl şi oxidarea cu clorat de potasiu când toți derivații cu sulf din urină trec în sulfați anorganici, care se precipită cu clorhidrat de benzidină sub formă de sulfat de benzidină care prin hidroliză la fierbere pune în libertate H_2SO_4 care se titrează cu NaOH.

Sodiul. Natriuria variază considerabil cu aportul alimentar. Ea este reglată prin activitatea corticosuprarenalei. Hormonii corticoizi, în special aldosteronul, stimulează reabsorbția sodiului, astfel că 99% din ionii de Na^+ ai filtratului primar sunt reabsorbiți. În mod normal în 24 de ore prin urină se elimină 3 - 7 g.

- *valori crescute* se întâlnesc în regimuri hipersodate, în insuficiența suprarenală, nefropatii tubulare sau interstițiale, administrări de diuretice.
- *valori scăzute*: în regim hiposalin (după 2 - 4 zile de la suprimarea sării); prin pierderi extrarenale (predominant digestive), sub acțiunea hormonilor steroizi.

Determinarea în laborator se poate face fie flamfotometric sau colorimetric.

Determinarea colorimetrică are la bază principiul precipitării sodiului sub formă de acetat triplu de uranil, Mg şi Na care se titrează cu o soluție de ferocianură de potasiu în mediu acetic dând o culoare brună care se poate colorimetra.

Potasiul. La fel ca şi sodiul, potasiul are origină exogenă, din alimentație. El este reabsorbit la nivelul tubului contort proximal şi secretat la nivelul celui distal.

- potasiul urinar *scade* în unele glomerulonefrite, pielonefrite, uremie extrarenală, diaree, boala Addison
- *creşte* în nefropatii tubulare, hiperaldosteronism, administrări prelungite de diuretice, strări febrile, acidoză, regim hiperpotasic.

Determinarea în laborator se bazează pe precipitarea K cu cobaltonitrit sub formă de cobaltonitrit de Na şi K, apoi oxidarea grupelor nitro cu $KMnO_4$ în exces iar excesul de permanganat se titrează prin metoda iodometrică cu tiosulfat de Na.

Calciul. Calciuria prezintă variații care depind de regimul alimentar, gradul absorbției intestinale, activitatea paratiroidei, a țesuturilor dure.

Calciul urinar scade în: insuficiențe renale avansate, anumite osteopatii, hipoparatiroidie, sarcină.

Creşteri ale calciului în urină se întâlnesc în hiperparatiroidism, osteoporoze, metastaze osoase, acidoze tubulare, intoxicații cu vitamina D, hipercalcemie.

Determinarea în laborator se face permanganatometric sau complexonometric.

Componente organice

Constituenții organici prezenți în urină se pot clasifica în:

1. constituenți azotați: uree, acid uric, creatinină, creatină, aminoacizi liberi, amoniac, azot total neproteic, proteine;

2. constituenți neazotați: substanțe reducătoare (glucoză, galactoză), acizi organici, mucină, substanțe mucoide;

3. efectori biochimici: vitamine, hormoni, enzime.

1. Constituenții azotați

Ureea este compusul azotat care se găseşte în cantitatea cea mai mare în urină, reprezentând 80 - 85% din azotul total urinar. Ureea este produsul final de degradare al proteinelor. Eliminarea este în funcție de vârstă şi de alimentația bogată în proteine. Un adult elimină în 24 ore aproximativ 15 - 30 g uree.

- cantitatea de uree urinară *creşte* după regimuri hiperproteice şi în cursul bolilor însoțite de hipercatabolism, în stări febrile, diabet.

- *scăderi* ale cantității de uree eliminată se produc în micşorarea ureogenezei hepatice, în atrofia galbenă a ficatului, ciroză, cancer hepatic în faza terminală sau prin tulburarea eliminării renale, nefrite acute şi cronice cu azotemie, nefrite toxice mercuriale, insuficiență renală.

Determinările în laborator folosesc aceleaşi metode ca pentru dozarea ureei în sânge: metoda cu urează, metoda cu diacetilmonoximă, metoda enzimatică Dialab, dar este necesară diluarea urinei de la 1: 20 – 1: 15, factor de diluție cu care se înmulțeşte rezultatul obținut.

Acidul uric este produsul final al metabolismului purinic. Cantitatea eliminată este rezultatul atât al fracțiunii endogene rezultate din metabolism cât şi a fracțiunii exogene din aportul alimentar.

Acidul uric se elimină prin urină atât în stare liberă cât şi sub formă de săruri şi anume de urați alcalini. Acidul uric este foarte puțin solubil, dar prezența sărurilor alcaline, în special a fosfaților, îi măresc solubilitatea. Alcalinizarea urinii printr-o alimentație bogat vegetariană măreşte solubilitatea acidului uric prin transformarea sa în urați alcalini solubili.

Urina normală conține o cantitate apreciabilă de acid uric, cuprinsă între 0,40 – 0,8 g/24 ore, aceasta fiind în funcție de vârstă, regim alimentar şi factori patologici, renali sau extrarenali. Această cantitate reprezintă o constantă individuală ce se menține chiar în cursul unui regim lipsit de purine. Se constată că eliminarea de acid uric în 24 ore nu este constantă. O alimentație exagerată, după o masă copioasă, deşi această masă nu conține baze purinice, va fi urmată de o eliminare crescută de acid uric, rezultat din metabolismul bazelor purinice endogene.

În gută, boală caracterizată prin depunerea uraților în țesuturi, sub formă solidă, eliminarea acidului uric exogen este încetinită. În această boală metabolică, formarea acidului uric este mai intensă decât la normal şi se consideră că ar rezulta direct din nucleotide, înaintea încorporărilor în acizii nucleici. În momentul accesului de gută, cu

depunerea uraților solizi la nivelul cartilajelor, se produce o creştere a excreției urinare de acid uric endogen, chiar dacă regimul este lipsit de purine. Această bruscă descărcare de acid uric în urină, coincide cu o creştere a depozitării sale la nivelul cartilajelor, producând criza de gută.

- *valori crescute* ale acidului uric până la 5 g/24 ore mai întâlnim în: leucemie, arsuri grave, efort muscular intens de lungă durată, tratamente radioterapice, boli care produc hipercatabolismul nucleoproteinelor celulare.

- *valori scăzute* ale acidului uric în urină întâlnim în nefrite, intoxicații cu plumb, diabet zaharat, insuficiență renală.

Determinări în laborator. Acidul uric precipită în prezența NH_3 sub formă de urat de amoniu care se titrează cu soluție de iod 0,1 n în prezența amidonului ca indicator. Se mai poate determina şi prin metoda enzimatică şi metoda standard care au fost utilizate şi pentru determinarea acidului uric din sânge. În aceste cazuri este necesară diluarea urinei de 1:50 –1:100 şi se ține cont de factorul de diluție la calcularea rezultatelor.

Creatinina urinară are o proveniență exclusiv endogenă. Originea sa metabolică este creatin –fosfatul, cu rol important în contracția musculară. Eliminarea creatininei se face în mod constant, zilnic între 1,5 –2 g/24 ore.

- eliminarea creatininei urinare *scade* în caşexie, scleroză renală, insuficiență renală, distrofie musculară progresivă prin micşorarea sintezei creatininei, tratamente cu testosteron.

- *creşteri* ale eliminării creatininei se întâlnesc în hipercorticism, acromegalie, atrofie musculară.

Determinarea în laborator se bazează pe propietatea creatininei de a reduce în mediu puternic alcalin acidul picric la acid picramic.

Creatina se elimină în cantități foarte reduse (0,060 - 0,150 g/24 ore) la adult. La copii concentrația este mult mai mare, uneori putând ajunge până la valoarea creatininei. Eliminări crescute se mai pot întâlni la femei în timpul sarcinii şi în atrofia musculară.

Aminoacizii. Aproape toți aminoacizii care intră în constituția proteinelor se pot găsi în urină, sub formă liberă. Urina normală poate să conțină 1 - 3 g/24 ore aminoacizi. Aminoacizii cei mai reprezentativi sunt: glicocolul, histidina, 1-metilhistidina, glutamina, serina, 3-metilhistidina, alanina, acidul beta-aminobutiric (BAIBA). În mod constant se găsesc: glicocolul, tirozina, leucina histidina. Dintre aceştia glicocolul se poate elimina aproximativ 140 mg/24 ore, histidina 210 mg/24 ore şi taurina 100 mg/24 ore. Creşterea cantității proteinelor alimentare determină creşteri ale eliminării histidinei, treoninei, lizinei şi tirozinei.

Hiperaminoaciduriile renale pot fi:

1) fiziologice: hiperaminoacidurii globale, la sugar şi prematur, prin imaturitatea sistemelor enzimatice de transport; hiperaminoacidurii şi histidinuria care apare prin mecanisme necunoscute în a 5-a săptămână de sarcină;

2) patologice care în funcție de mecanismele fiziopatologice pot fi:

a) aminoacidurii renale, prin tulburarea reabsorbției tubulare, cu nivel sanguin normal;

b) aminoacidurii prerenale cu nivel de concentrație sanguină şi eliminare crescută. Hiperaminoaciduriile renale pot fi congenitale sau dobândite.

Hiperaminoaciduriile renale se caracterizează prin alterarea reabsorbției unui singur aminoacid (glicocoluria) sau a unui grup de aminoacizi (cistinuria).

Problema erorilor înnăscute ale metabolismului aminoacizilor se pune totdeauna la copiii ce prezintă întârzieri în dezvoltarea corporală şi mintală.

Glicocoluria ereditară este o boală familială caracterizată prin alterarea reabsorbției tubulare a unui singur aminoacid, glicocolul.

Cistinuria se caracterizează, în forme severe, prin eliminarea urinară crescută a patru aminoacizi: cistină, lizină, arginină şi ornitină. Concentrația plasmatică a acestor aminoacizi este normală.

În aminoacidurii globale se întâlnesc şi situații în care eliminările de aminoacizi sunt însoțite de eliminări de alte componente, cum este **sindromul Toni-Debré-Fanconi**. În forma clasică, sindromul se caracterizează prin hiperaminoacidurie globală, glicozurie şi fosfaturie, la care se adaugă eliminări urinare crescute de Na^+, K^+ şi Ca^{2+}; în sânge: glicemie normală, fosfataza alcalină crescută, aminoacidemie normală, acidoză metabolică. Sindromul poate să apară şi ca o manifestare secundară în cadrul altor sindroame congenitale cu tulburare extrarenală a metabolismului ca: galactozemia, intoleranța ereditară la fructoză, diferite glicogenoze.

Fenilcetonuria (idioția fenilpiruvică) este datorată unui deficit genetic de fenilalanilhidroxilază care are rolul de a cataliza transformarea fenilalaninei în tirozină. Ca urmare în sânge se acumulează fenilalanină care se elimină prin urină alături de produşii de metabolizare ai acestora : acidul fenilpiruvic, acidul fenilacetic şi fenillactic.

Fenilalanina în exces blochează tirozinaza, ceea ce va duce la un deficit în formarea melaninei. Aşa se explică de ce bolnavii cu fenilcetonurie au o față albă, păr blond foarte deschis şi ochi albaştri.

Fenilalanina în exces fiind toxică pentru celula nervoasă duce la întârzierea dezvoltării mentale (idioție fenilpiruvică).

Alcaptonuria este cauzată de un deficit genetic de o enzimă – homogentizic –oxidaza care are rol tot în catabolizarea fenilalaninei şi tirozinei. Această deficiență va duce la acumularea de acid homogentizic în sânge , țesuturi şi eliminarea lui prin urină. Urina în contact cu aerul se închide la culoare, datorită produşilor de oxidare ai acidului homogentizic producând pigmentul "alcapton" de culoare brună. În formele grave se pot colora şi țesuturile conjuctive. Alcaptonuria nu este însoțită de fenomene clinice grave, ea putându-se manifesta prin fenomene de artroză.

Albinismul este cauzat de un deficit genetic de tirozinază care va duce la perturbarea formării de melanină. Ca urmare bolnavii având un deficit de melanină vor prezenta o piele albă, păr deschis la culoare şi ochi de culoare foarte deschisă, cu o fotosensibilitate accentuată.

Urina cu miros de arțar (Maple syrup disease) este o boală datorată activității scăzute a complexului enzimatic al α-cetoacid-dehidrogenazei care duce la acumularea de valină, leucină şi izoleucină în sânge şi la eliminarea acestora prin urină împreună cu produşii de degradare imprimând urinii un miros de sirop de arțar. Deficitul în metabolizarea acestor aminoacizi duce la leziuni nervoase, întârzierea dezvoltării mintale, în formele severe chiar la deces. În condițiile în care boala este decelată în primele luni de viață şi se administrează o alimentație săracă în valină, leucină şi izoleucină, ea poate fi tratată.

Determinarea aminoacizilor în laborator se efectuează prin cromatografie în strat subțire sau pe hârtie, prin electroforeză sau colorimetric cu nihidrină când se obține o colorație albastru-violet, a cărei intensitate este direct proporțională cu concentrația.

2. Constituenții neazotați

Acizii organici. În urină se elimină în cantități foarte mici şi acizi organici alifatici. Aceştia pot fi acizi organici cu greutate moleculară mică, acid formic, acetic, butiric; acizi dicarboxilici: oxalic, succinic, glutaric şi adipic. Se mai elimină acizi-alcooli cu important rol metabolic: lactic, gliceric, malic, citric. Proveniența *acidului oxalic*, cu importanță în patologia renală este încă discutată. Unele ipoteze îi atribuie ca sursă oxidarea zaharurilor şi a acidului ascorbic. Experiențele cu glicocol marcat au demonstrat că acest aminoacid este principalul precursor al acidului oxalic.

Acidul oxalic este prezent în urina normală în cantități de ordinul mg. Se găseşte în special sub formă de oxalat de calciu care la pH-ul slab acid al urinii precipită sub formă de cristale caracteristice, care se pot depune sub formă de calculi, fiind de obicei însoțit de urat.

În urină se mai găseşte *acidul glucuronic* care apare conjugat cu substanțe, în general aromatice, formate în procesul de detoxifiere a organismului.

Acidul hipuric, rezultat din conjugarea glicocolului cu acidul benzoic se elimină în urină în cantitate de 0,5 - 0,7 g/24 ore în funcție de alimentație şi medicație.

În urină se mai pot elimina alfa-cetoacizi: acid pirivic şi acid alfa-cetoglutaric. Ei pot fi puşi în evidență prin reacția cu 2-4-difenilhidrazină cu formarea hidrazonelor respective.

3. Efectori biochimici

Hormoni. Vitamine. Enzime.

Hormonii. Din urină s-au izolat un număr mare de hormoni şi derivați ai hormonilor sexuali şi corticosuprarenali, care la nivelul ficatului sau rinichiului sunt transformați în sulfo- sau glucuronoconjugați, ce se elimină prin urină.

Dintre aceştia, cu importanță diagnostică, amintim: adrenalina, noradrenalina, gonadotropina, serotonina, steroizii.

Dintre derivații hormonali cu importanță în patologia umană pot fi semnalați următorii: acidul vanilmandelic, derivat din catecolamine, 17-cetosteroizii şi 17-hidroxisteroizii, derivați din hormonii steroizi, acidul 5-hidroxi-indolacetic, derivat din serotonină, coriogonadotropina-HCG (human chorionic gonadotropin) important pentru diagnosticul de sarcină.

Dintre aceştia cei mai importanți sunt 17-cetosteroizii. Apariția acestora în urină din punct de vedere cantitativ este în funcție de vârstă şi sex. De la 3 - 17 ani concentrația acestora creşte de la 0,15 - 8 mg/urina din 24 ore. La bărbați între 12 - 18 mg/24 ore iar la femei între 6,5 - 17,5 mg/24 ore.

Hormonii androgeni la bărbați se găsesc în concentrație de aproximativ 70 UI/24 ore iar la femei 50 UI/24 ore.

Hormonii estrogeni la femei se găsesc în cantități diferite în funcție de perioada ciclului şi starea de sarcină. La un ciclu normal de 28 zile evoluția este următoarea:

a 7-a zi:	110 UI
a 14-a zi:	330 UI
a 20-a zi:	500 UI
a 28-a zi:	50 UI

În perioada de sarcină se înregistrează o creştere progresivă până la 100 000 UI, apoi are loc o scădere care semnalează iminența naşterii.

Pregnandiolul - la copii şi bărbaţi trebuie să fie absent. La femei în sarcină se înregistrează o creştere lentă, apoi o creştere rapidă până la 120 mg la 24 ore, valori ce se menţin până la naştere.

Hormonii corticosteroizi se elimină sub formă de 17-hidroxicorticoizi, la femei 7,5 mg/24 ore iar la bărbaţi 12 mg/24 ore.

Determinările în laborator se bazează pe procedee biologice, fluorimetrice, cromatografice şi radioimunologice. Ele se execută în laboratoare de strictă specialitate.

Acidul vanilmandelic, dozabil în toate laboratoarele de analize curente, se poate determina prin extracţie cu solvenţi organici, urmată de oxidarea sa cu periodat de sodiu pentru convertirea în vanilină, ce se determină spectrofotometric la 340 nm.

Acidul 5 hidroxi-indol-acetic se determină în extractul de urină cu solvenţi organici, prin reacţia de culoare cu 1-nitrozo-2-naftol şi nitrit de sodiu, a cărei intensitate se măsoară la 540 nm.

Vitamine. În urină apar numai vitaminele hidrosolubile, cele liposolubile se elimină prin urină numai în cazuri patologice, deoarece ele sunt reţinute în organism la nivelul ţesuturilor respective (ficat, celule reticulate din ochi etc.).

Eliminarea vitaminelor hidrosolubile în urină este dependentă de aportul alimentar. Ele apar în urină numai după ce ţesuturile au reţinut cantitatea necesară. Vitaminele hidrosolubile se găsesc în urină sub două forme: fie ca atare, fie sub formă de produşi de oxidare, datorită probabil compoziţiei complexe a urinii, sau se pot oxida după emisia urinii. În urină cel mai adesea se găsesc vitamina C şi B.

Determinarea în laborator se efectuează fie cu 2,6-diclorfenol-indofenol când se formează un leucoderivat, sau o metodă mai exactă este metoda enzimatică cu ascorbicooxidaza care acţionează numai asupra vitaminei C. Menţionăm că dozarea unei singure vitamine în urină nu permite tragerea concluziilor judicioase asupra carenţei organismului. Sunt necesare probe de supraîncărcare pentru a se putea aprecia rezervele organismului explorat.

Enzimele urinare. În mod normal în urină se găsesc numai enzimele cu greutate moleculară mică, cum sunt: lizozimul (11 450 d - 14 500 d) şi amilaza (45 000 d). Dintre acestea cea mai explorată este amilaza cu cele două izoenzime ale sale, salivară şi pancreatică (tip II S şi P).

Enzimele cu greutate moleculară mare vor apare în urină numai în urma leziunilor renale. Astfel, în urină pot apare:

1. *Oxidoreductaze:* lacticdehidrogenază (LDH) cu izoenzimele LDH_1, LDH_2, LDH_3, LDH_4, LDH_5; malic-dehidrogenaza, glutamic-dehidrogenaza, catalaza.

2. *Transferaze: aminotransferaze (AST, ALT);*

3. *Hidrolaze:* proteaze (uropepsinogen cu izoenzimele I, II), urokinază, peptidaze (leucin-aminopeptidază), sulfataze;

4. *Liaze:* hialuronidază, aldolază.

Enzimele şi izoenzimele la nivelul urinii se bucură din ce în ce mai mult de apreciere în diagnosticul unor boli renale şi extrarenale; dintre acestea sunt fosfatazele, leucinaminopepdidazele şi lactico-dehidrogenaza.

În laborator se determină prin aceleaşi metode aplicate şi în biochimia clinică a sângelui, ținându-se cont de volumul urinar. Determinările se efectuează pe urina de 24 ore obligatoriu, deoarece eliminarea enzimatică nu este constantă pe 24 ore. În laboratoarele clinice se urmăreşte în mod curent activitatea amilazei urinare cu cele două izoenzime ale sale (tip II S şi P). Determinarea se efectuează prin electroforeză în gel de agar sau în gel de amidon. Punerea în evidență a izoenzimelor în zimogramă se realizează prin reacția de culoare iod-amidon, sau prin reacția zaharogenică, folosind reactivi enzimatici (glucozoxidază, maltază, peroxidază şi un cromogen tip o-tolidină), sau cu pastile de amidon cuplat cu un colorant, cum sunt pastilele Phadebas-Amylase-Test.

Valorile normale ale acestei enzime sunt cuprinse între 2 - 10 UI/24 ore. Variații importante în patologie se întâlnesc în pancreatita acută când cresc, iar în nefrite şi cancer de pancreas scad.

În urină se explorează şi uropepsina după activarea uropepsinogenului cu HCl.

Muramidaza sau lizozimul prezintă un interes deosebit în patologia clinică, prin variațiile înregistrate în unele hemopatii maligne (leucoze) şi în nefropatii cronice (nefropatia endemică).

Pentru determinări complete se stabilesc constelații de teste, urmărind mai multe enzime. Astfel, în insuficiența renală se efectuează următoarele determinări enzimatice: LDH-ul, AST-ul, fosfataza alcalină; în sindromul nefrotic: fosfataza alcalină, AST-ul; pentru depistarea diferitelor tumori: beta-glucuronidaza, LDH_3 şi AST-ul.

II.4. COMPONENTE ANORMALE ALE URINII

Apariția elementelor patologice în urină se datorează fie cauzelor renale, fie extrarenale. Factorii cei mai importanți care favorizează apariția elementelor patologice în urină sunt:

- alterarea filtrului renal care va duce la imposibilitatea reabsorbției unor produşi la nivelul filtratului glomerular, cum sunt: proteinele, pigmenții sanguini, pigmenții biliari;
- tulburări ale metabolismului intermediar care se caracterizează prin creşterea concentrației sanguine în mod exagerat şi care va duce la eliminarea lor prin urină, de exemplu: glucoza, corpii cetonici;
- apariția unor produşi anormali de catabolizare, cum ar fi: melaninele, acid fenilacetic şi aminoacizi de tip alfa.

Proteinele

Proteinuria fiziologică. În mod normal urina conține cantități infime de proteine, nedozabile prin metodele uzuale. Cu metode speciale s-a pus în evidență o proteinurie fiziologică de 25 - 80 mg/24 ore. Peste aceste valori prezența lor în urină este patologică.

Pentru semnalarea prezenței proteinelor în urină se utilizează termenul impropriu de „albuminurie". Proteinuria este caracterizată, în general, prin prezența în urină a proteinelor identice cu cele din plasmă. Astfel, în urină s-au putut separa prin electroforeză şi imunoelectroforeză: prealbumină, albumină, globuline, transferina, alfa-1-lipoproteina etc.

Apariția proteinelor în urină poate avea două cauze: renală şi extrarenală.

Cauzele extrarenale pot fi multiple. Apariția unor proteine anormale în sânge cu o greutate moleculară mică care pot străbate foarte uşor filtrul renal, sau, în cazul unei concentrații mari în sânge pot trece datorită unui debit lent de reabsorbție.

Uneori cauzele extrarenale pot fi şi consecința unor stări febrile, consecința unor tumori, în diferite stări de intoxicație cu arsen, chinină, săruri de bismut.

Poate să apară o proteinurie şi în afara îmbolnăvirilor, exemplu la sportivi după efort fizic întens, sau uneori în urma efectuării unor băi reci, sau la femei în ultimele luni de sarcină.

În perioada adolescenței (14 - 18 ani) deseori poate apărea proteinuria ortostatică care poate să dispară după repausul la pat.

Se cunosc trei tipuri de proteinurii:

a) proteinurie severă, peste 4 g/24 ore şi este consecința unei alterări avansate a rinichiului;

b) proteinurie avansată: 0,5 - 4 g/24 ore este consecința îmbolnăvirii rinichiului, dar nu ireversibil;

c) proteinurie redusă: sub 0,5 g/24 ore şi se întâlneşte în stări latente de îmbolnăvire, în convalescență, nefropatii.

Proteinuria patologică se încadrează în două variante: proteinurie de tip glomerular şi proteinurie de tip tubular.

Proteinurii glomerulare

În cadrul proteinuriilor glomerulare se disting proteinuria selectivă şi neselectivă. Ele corespund în majoritatea cazurilor, nefropatiilor glomerulare şi sunt caracterizate prin prezența exclusivă a proteinelor plasmatice.

Proteinuria selectivă comportă prezența în urină a proteinelor plasmatice cu greutate moleculară mai mică de 85 000 d (albumină, siderofilină, alfa 1-glicoproteină). Albumina reprezintă 80% din proteinele urinare.

În cursul nefritelor, nefrozelor, bolilor toxice, membrana filtrantă glomerulară devine permeabilă, fapt ce permite trecerea proteinelor (şi chiar a sângelui) în urină.

Proteinuria neselectivă cuprinde toate proteinele plasmatice, chiar şi cele cu greutate moleculară ridicată, cum sunt transferina (88 000 d), IgG (150 000 d), molecule gigantice de tip IgM şi beta-lipoproteine. Aspectul electroforetic şi imunoelectroforetic al proteinelor urinare în această situație este foarte apropiat de cel al proteinelor serice.

Proteinurie de tip tubular

Proteinuria tubulară are drept mecanism principal de producere scăderea reabsorbției tubulare şi, într-o măsură mai mică, secreția de proteine datorită unui proces inflamator („proteinurie exudativă") ca şi eliminarea de proteine rezultate din descuamarea epiteliului tubular. Proteinuria care survine în cursul nefropatiei tubulo-interstițiale este, în general, consecința unui defect în reabsorbția proteinelor cu greutate moleculară mică, filtrate prin glomerul.

Proteinuria tubulară se caracterizează prin creşterea excreției urinare a proteinelor cu greutate moleculară mică, în timp ce excreția de albumină este relativ mai puțin crescută. Aceasta contrastează cu excreția predominantă a albuminei în proteinuria glomerulară. Diferențierea tipului de proteinurie tubulară poate fi posibilă prin electroforeză, în care apar benzi mai marcate în zona beta. Electroforeza pe hârtie a urinii permite să se suspecteze o proteinurie tubulară în cazul în care intensitatea proteinuriei este mică (rar depăşeşte 1 g/24 ore), albumina este într-o proporție mai redusă şi există mai multe globuline. Pentru identificarea tipului de globulinurie sunt necesare metode mai

precise ca: electroforeza în gel de amidon şi imunoelectroforeza. Izolarea $beta_2$-microglobulinei, care migrează în banda lată a zonei beta, permite o determinare mai exactă a proteinuriei tubulare. *$Beta_2$-microglobulina* este un polipeptid cu o greutate moleculară de 10 800 daltoni şi reprezintă un produs al modificărilor metabolice de la suprafaţa celulelor.

În afară de eliminarea crescută de proteine filtrate glomerular, proteinuria tubulară mai conţine şi *proteine secretate*. Principala proteină secretată tubular este *glicoproteina Tamm-Horsfall*. Aceasta constituie 50 - 75 mg din proteinele urinare eliminate zilnic şi reprezintă principala componentă a cilindrilor urinari. Ea este produsă în special de celulele ramurii ascendente a ansei Henle, ale tubului contort distal şi ale porţiunii iniţiale ale tubului colector. Determinarea sa cantitativă este dificilă deoarece este rapid polimerizată. Ea poate fi pusă în evidenţă cu ajutorul unor antiseruri specifice. Excreţia sa urinară este mult crescută în procesele inflamatorii de cauze diverse ale tractului urinar.

O altă proteină secretată tubular este *IgA secretorie* prezentă normal în urină în cantităţi mici (0,5 - 3,0 mg/24 ore). Această proteină şi alte imunoglobuline se găsesc mai ales în nefropatii tubulare asociate cu infecţii bacteriene. Punerea în evidenţă a acestora se poate efectua prin metode de imunoflorescenţă.

Paraproteinurie

În anumite afecţiuni cum sunt: mielomul multiplu, macroglobulinemia Waldenström, boala lanţurilor grele, crioimunoglobulinemia mixtă, apar în urină paraproteine. Ele sunt globuline, aparţinând sistemului de imunoglobuline, formate fie din lanţuri uşoare (Kapa şi lambda) izolate, fie din lanţuri polipeptidice complete aparţinând familiilor IgG, IgA şi IgM. Nu se ştie dacă paraproteinele sunt globuline cu structură anormală sau dacă ele reprezintă o populaţie moleculară restrânsă de imunoglobuline normale, produse în cantitate mare.

Afectarea renală, deseori întâlnită în disproteinemii şi mai ales în mielomul multiplu, este predominant tubulo-interstiţială. Greutatea moleculară mică a lanţurilor uşoare permite ca acestea să fie filtrate prin membrana glomerulară. În proporţie de 99% lanţurile uşoare filtrate sunt reabsorbite şi degradate la nivelul tubului contort proximal, iar reabsorbţia tubulară proximală în exces a acestor proteine poate duce la leziuni tubulare, precipitarea endotubulară a proteinelor şi disfuncţie tubulară proximală. Proteinele cu lanţuri grele nu sunt filtrate în mod normal prin glomeruli. Prin urmare nu apar leziuni de nefrotoxicitate la pacienţii cu boala lanţurilor grele.

Proteinuria „clasică" de tip Bence-Jones, care apare în 95% din cazurile de mielom multiplu, este constituită din proteine cu greutate moleculară mică reprezentând monomeri sau dimeri ai lanţurilor uşoare de imunoglobuline. Proteinele Bence-Jones se caracterizează prin

termosolubilitate (precipită la 55-70°C, se redizolvă între 80 - 100°C; reprecipită prin răcire).

Determinări în laborator

Metode de precipitare - care aplică principiul perturbării echilibrului coloidal al proteinelor şi reprecipitarea lor în sistem. Se utilizează metoda precipitării la rece cu acid sulfosalicilic, cu acid azotic-azotos (Heller), acid tricloracetic, acid picric şi citric (Esbach), soluţii saturate saline şi precipitarea la cald cu acid acetic.

Metode de dozare. Se aplică metoda biuretului direct pe urină sau pe precipitatul obţinut cu acid percloric 70% pentru urinile care conţin cantităţi mici de proteine.

Metode electroforetice şi imunoelectroforetice. Aceste metode se utilizează ca mijloc de studiu atât calitativ cât şi cantitativ. Pe lângă metodele clasice se utilizează şi gelul de amidon sau gel de agaroză. Aceste metode permit separarea fracţiunilor proteice şi în special punerea în evidenţă a paraproteinelor. Pentru a utiliza aceste metode, urina trebuie în prealabil concentrată.

Se aplică şi cromatografia pe coloane de schimbători de ioni (DEAE celuloză) sau filtrare prin gel de Sephadex 200, pentru separarea fracţiunilor proteice, în funcţie de greutatea lor moleculară.

Glucidele

În urină se găsesc cantităţi mici de diferite oze, ca: glucoză (până la 200 mg/24 ore), fructoză, manoză (5 - 20 mg/24 ore), arabinoză, xiloză (30 - 100 mg/24 ore), ramnoză, galactoză, riboză, în urme. O denumire generică dată prezenţei acestor glucide în urină este aceea de **meliturie.** Prezenţa acestora poate conferi urinii o slabă capacitate reducătoare.

Glucoza este glucidul cel mai important şi cel mai frecvent întâlnit în patologia clinică. Glicozuria ridicată este corelată de obicei cu hiperglicemie, ca în diabetul zaharat (pancreatic). Atunci când nivelul glucozei sanguine depăşeşte 170 - 180 mg% apare glicozuria. În mod normal glucoza se reabsoarbe la nivelul tubilor renali, printr-un proces activ. Celulele renale sunt active şi în lipsa insulinei. Acest proces de reabsorbţie este însă limitat, iar capacitatea de reabsorbţie tubulară maximă este aproximativ 350 mg/min. Când nivelul glicemiei creşte peste 170 - 180 mg/100 mL, filtratul glomerular va conţine mai multă glucoză decât poate fi reabsorbită, iar excesul se elimină prin urină. Se

consideră că în astfel de situaţii glucoza sanguină a depăşit pragul renal. Acest prag nu depinde însă numai de funcţia tubulară, ci poate varia şi cu viteza filtrării glomerulare. Dacă glicozuria este severă, eliminările masive pe cale urinară antrenează şi o *poliurie*. La eliminările masive de apă şi electroliţi pe cale urinară contribuie şi producţia crescută de uree precum şi hipercetonemia. În plus, corpii cetonici, având un caracter acid, atacă rezerva de carbonaţi acizi din sânge, ducând la acidoză metabolică. Deperdiţia de apă produce senzaţia de sete şi duce la *polidipsie*. Se întâlnesc destul de numeroase cazuri de glicozurie fără hiperglicemie, determinate prin tulburarea procesului de reabsorbţie tubulară, ca în **diabetul renal, sindromul Fanconi,** sau în glicozuria din tulburările înnăscute ale aminoacizilor.

Glicozuria poate fi permanentă sau tranzitorie. Acest lucru se constată prin repetate analize ale urinii pe nemâncate şi după ingerarea de alimente. O glicozurie tranzitorie poate fi de origine alimentară, în timpul sarcinii, în hipertiroidism şi în diferite intoxicaţii.

Determinări în laborator

Probele de urină ce conţin cantităţi mari de acid uric, creatinină, vitamină C, după ingerarea de anumite medicamente, pot da reacţii fals pozitive. Pentru a îndepărta aceste inconveniente, urina trebuie defecată, operaţie realizată cu reactiv Courtonne (sol. acetat bazic de plumb) sau reactiv Patein (sol. roşu de mercur în HNO_3 şi NaOH).

Identificarea glucozei se face prin reacţia Fehling şi Nylander, bazată pe proprietăţile reducătoare ale glucozei asupra hidroxidului de cupru şi respectiv a azotatului de bismut.

Determinarea cantitativă are ca principiu reducerea fericianurii de potasiu în mediu alcalin de către glucoză la ferocianură de potasiu; sfârşitul reacţiei este indicat de acidul picric care este redus la acid picramic de coloare roşie-portocalie (metoda Ionescu-Matiu).

Glucoza se mai poate doza şi cu reactiv Benedict şi cu ortotoluidină.

Dozarea polarimetrică a glucozei. Glucidele (pentozele şi hexozele) datorită prezenţei atomilor de carbon asimetrici din moleculă, deviază planul lumini polarizate cu un unghi a cărui mărime este direct proporţională cu concentraţia, lungimea tubului polarimetrului şi unghiul de deviere specific fiecărei oze.

Oxidarea enzimatică cu glucozo-oxidază. Glucoza se transformă sub acţiunea enzimei în acid gluconic, cu producere concomitentă de H_2O_2 cu oxidarea unui cromogen de tip ortotolidină care se va colora în albastru-violet.

Pentozele care apar în urină accidental, sporadic, au o origine exclusiv alimentară, dar dacă apare o cronicizare a prezenţei lor în urină,

ea se poate datora unei anomalii metabolice ereditare inofensive, cu eliminare de arabinoză racemică. Pentoza poate fi găsită în urină şi după administrarea unor medicamente (camfor, clorhidrat etc.). Pentozele se identifică prin reacția Bial, cu orcinol, când apare o colorație verzuie.

Fructozuria. Fructoza se găseşte în urină de obicei împreună cu glucoza, în diabet sau în urina unor pacienți cu anomalii de metabolism glucidic. În cazul unor leziuni ale parenchimului hepatic, în diferite forme de icter, există o toleranță scăzută pentru fructoză. Fructoza se identifică cu rezorcină, cu care formează un compus colorat în roşu.

Lactozuria apare la sfârşitul perioadei de sarcină şi în perioada lactației. Nu are semnificație patologică. Se identifică prin încălzirea urinii la 60°C cu KOH şi NH_3 când rezultă o colorație roşie (R. Wohlk).

Galactozuria apare în aceleaşi condiții ca şi lactozuria. Se pune în evidență prin transformarea în acid mucic. Reacția nu este specifică, fiind pozitivă şi în prezența lactozei.

Acidul glucuronic apare în urină în condiții speciale legate de procesul de detoxifiere. Se pune în evidență cu naftorezorcină în mediu de HCl când apare un compus colorat în albastru.

Corpii cetonici

Compuşi cetonici ca: acetona, acidul acetilacetic, acidul beta-hidroxibutiric apar în urină în diabet şi în general în tulburările metabolismului glucidic, în stări de hiperreactivare a metabolismului lipidic, în inaniție, după anumite anestezii, în acidoză, toxicoză gravidică. Cantitatea cea mai mare apare în coma diabetică.

În laboratoarele clinice se identifică în mod curent prezența acetonei cu nitroprusiat de sodiu în mediu alcalin cu formarea unui compus colorat în violet. Se aplică două metode şi anume: reacția Segal cu nitroprusiat de sodiu şi amoniac şi reacția Rothera cu sulfat de amoniu şi nitroprusiat de sodiu. Pentru acidul acetilacetic se practică reacția Gerhardt cu perclorură ferică când se obține o colorație roşie-bordo, care dispare la încălzire.

Pigmenții biliari

Bilirubina directă se elimină prin urină numai în icterele postmicrozomale. Bilirubina este pusă în evidență prin reacția de oxidare în biliverdină. Oxidarea se realizează practic prin reacția cu iod (R. Popper), cu soluție iod-iodurat (R. Rosin), acid tricloracetic şi $FeCl_3$ (R.

Fouchet), amestec bicromic (Ionescu-Matiu). Prin reacția de azocuplare cu 2,6-diclor-benzol-diazoniu-fluorurat în mediu acid se obține o coloratie violetă.

Urobilinogenul. Urina normală, proaspăt emisă, conține numai urobilinogen, care prin oxidare la lumină, trece în urobilină. De aceea în urina proaspătă trebuie să căutăm urobilinogenul, iar în cea care a stat câteva ore, urobilina.

Eliminarea urinară de urobilinogen este 0,2 - 4 mg/24 ore.

Creşterea urobilinogenului în urină poate fi întâlnită în următoarele situații:

a) producere excesivă de pigmenți biliari (hemoliză);

b) afecțiuni hepatice (hepatita virală acută, hepatita cronică agresivă şi ciroza hepatică). Trebuie subliniat că urobilinogenul urinar este crescut în perioada preicterică a hepatitei virale, de unde rezultă importanța sa deosebită din punct de vedere diagnostic;

c) poluare bacteriană intestinală anormală care determină o formare şi o reabsorbție crescută de urobilinogen;

d) constipația care permite o durată de acțiune a bacteriilor intestinale şi deci a formării de urobilinogen.

Scăderea urobilinogenului în urină se poate întâlni în:

a) obstrucția căilor biliare (intra- şi extrahepatice); când obstrucția este completă, bila nu ajunge în intestin şi în consecință nu se va forma urobilinogen (deci va fi absent în urină);

b) diaree, prin reducerea timpului de tranzit intestinal;

c) reducerea florei bacteriene intestinale, în urma tratamentului cu antibiotice;

d) tulburarea în excreția urinară a pigmentului (insuficiența renală).

Urobilinogenul se determină cu p-dimetilaminobenzaldehida dizolvată în HCl concentrat (R. Erlich) când se obține o coloratie roşie.

Testul este aplicat pentru explorarea funcției hepatice, pentru a urmări evoluția pacienților cu afecțiuni hepatice, pentru testarea donatorilor de sânge expuşi la hepatite toxice, pentru testarea pacienților suspecți de obstrucție biliară şi în diagnosticul diferențial al icterelor în paralel cu identificarea bilirubinei urinare.

Redăm mai jos principalele posibilități de reacție pentru diferențierea obstrucției biliare:

Component urmărit	***Pacient normal***	***Boală hemolitică***	***Boală hepatică***	***Obstrucție biliară***
Urobilinogen urinar	Normal	Crescut	Crescut	Scăzut
Bilirubina urinară	Negativă	Negativă	Pozitivă	Pozitivă

Urobilina (şi stercobilina) reacţionează cu soluţia de acetat de Zn în alcool (R. Schlessinger) cu producerea complexului Zn-urobilină care are o fluorescenţă verde.

Acizii biliari. Se testează bazat pe proprietăţile lor tensioactive prin reacţia Hay, cu floare de sulf.

Pigmenții sanguini

Membrana filtrantă glomerulară lasă să treacă în mod normal până la 1 000 eritrocite/min. Orice creştere peste aceste valori indică existenţa unui proces patologic în rinichi sau căile urinare.

Hematuria poate avea cauze renale şi extrarenale.

Cauzele extrarenale ale hematuriei pot fi: supradozaj de medicamente anticoagulante, exces de analgezice, ciclofosfamida (cistită chimică), antibiotice, siclemia, prezenţa unor afecţiuni maligne, infecţii.

Cauzele renale ale hematuriei din punct de vedere anatomic pot fi glomerulare sau extraglomerulare.

- cauzele extraglomerulare includ: chisturile, litiaza renală, nefrita interstiţială şi neoplasmul renal.
- cauzele glomerulare includ: nefropatia cu IgA, glomerulonefrita bazală glomerulară (MBG), glomerulonefrita postinfecţioasă.

Prezenţa cilindrilor eritrocitari atestă originea glomerulară a hematuriei.

În cazuri patologice în urină putem întâlni fie **hematurii microscopice** (în sedimentul urinar apar hematii), fie **macroscopice** ce pot apare în unele afecţiuni renale (inflamaţia endoteliilor capilare în glomerulonefrite, necroza arteriolară în hipertensiunea arterială malignă, infarctul renal, intoxicaţii cu agenţi nefrotoxici, supradozajul de anticoagulante, tumori, calculi, infecţie, traumatisme), fie **hemoglobinurii** (hemoliză intravasculară fără hematii în sediment).

Prezenţa cilindrilor eritrocitari atestă originea glomerulară a hematuriei.

Punerea în evidenţă a pigmenţilor sanguini în urină se face printr-un examen microscopic, spectroscopic şi chimic.

Examenul microscopic. În sedimentul urinar vor apare în câmpul microscopic eritrocite.

Examenul spectroscopic. Hemoglobina are un spectru de absorbţie caracteristic.

Examenul chimic. Principiul metodelor se bazează pe faptul că hematina având proprietăţi peroxidazice descompune apa oxigenată sau un peroxid organic, cu oxidarea unui cromogen care se colorează. În acest scop se utilizează R. Adler (benzidina se colorează în albastru), R.

Mayer (fenolftaleină în mediul alcalin - culoare roşie). Aceste metode pot fi aplicate şi direct pe sedimentul urinar.

Determinarea sediului hematuriei poate fi realizat prin:

- *Studiul aspectului hematiilor pe frotiu*

Hematiile care trec prin filtrul renal (boli glomerulare) apar decolorate, în timp ce hematiile din căile urinare apar colorate normal.

- *Proba celor trei pahare*

Bolnavul colectează în trei pahare succesiv urină provenită dintr-o singură micţiune.

a) Când urina este roşie în primul pahar (Hematurie iniţială) indică o origine din căile uretrale şi prostată.

b) Hematuria din cel de al treilea pahar (Hematurie terminală) provine din vezica urinară.

c) Dacă urina este roşie în toate cele trei pahare (Hematurie totală) sângerarea este localizată în rinichi sau căile urinare superioare.

Piuria se datoreşte prezenţei leucocitelor în număr foarte mare (sute de mii/mL urină). Urina este tulbure încă de la emisie. Ea apare în inflamaţii severe ale căilor urinare şi rinichilor. Principalele boli piurice sunt infecţiile urinare nespecifice (cistitele, pielonefritele acute şi pionefrozele) sau specifice (tuberculoză), piurie microscopică (leucociturie microscopică) poate să apară şi în litiază urinară, tumori urinare.

Manifestările clinice asociate cu piuria sunt tulburările de micţiune, durere vezicală sau renală, hematurie macroscopică.

Examenul de laborator pune în evidenţă prezenţa cilindrilor leucocitari, bacteriurie, prezenţa bacilului Koch.

Chiluria se defineşte ca o urină tulbure încă de la emisie, cu aspect lactescent datorită prezenţei de limfă în urină. Apare consecutiv obstrucţiei canalului toracic limfatic cu refluxul limfei în trunchiurile limfatice lombare, bazinetale şi piramidale. Obstrucţia poate fi parazitară, post-traumatică sau neoplazică. Chiluria se indentifică prin punerea în evidenţă a trigliceridelor în urină,

Pneumaturia se datoreşte prezenţei de gaze în urină. Acestea pot apărea la bolnavii diabetici cu glicozurie şi cu forme severe de infecţie urinară şi mai ales datorită unei comunicări anormale cu tubul digestiv (fistule vezico-intestinale).

Nitritul urinar (Nit) este un test rapid, o metodă indirectă de determinare a bacteriuriei urinare.

Bacteriile gram-negative conţin enzime care reduc nitratul la nitrit.

Porfirinele

În urina adultului normal se elimină zilnic 50 - 200 μg porfirine, rezultate în biosinteza normală a hemului, ca produşi intermediari. Creşterea acestei eliminări constituie *porfiria*.

Astfel, în procesul de biosinteză a hemului, care are loc în celulele sistemului eritroformator din măduvă, ficat, splină, se disting următoarele etape:

- sinteza acidului δ-aminolevulinic
- formarea porfobilinogenului
- formarea protoporfirinei IX
- unirea protoporfirinei IX cu Fe^{2+}.

Sinteza acidului δ-aminolevulinic se produce prin condensarea succinil-CoA cu glicocolul, reacţie catalizată de δ-aminolevulinsintetaza (δ-ALAS). În continuare, două molecule de acid δ-aminolevulinic se condensează cu eliminare de 2 molecule de H_2O, formându-se *porfobilinogenul*, reacţie catalizată de enzima δ-aminolevuinatdehidratază. Prin eliminarea în continuare a unei molecule de NH_3 se obţine uroporfirinogen I. Formarea directă a uroporfirinogenului I prin condensarea a patru molecule de porfobilinogen este catalizată de porfobilinogendezaminază. Uroporfirinogen I se obţine în cantităţi mici şi nu este precursorul hemului.

Uroporfirinogen III, care este precursorul hemului, se obţine printr-un mecanism complex în care acţionează două enzime, uroporfirinogen III cosintetaza şi porfobilinogendezaminaza.

Uroporfirinogenul III va suferi o decarboxilare a celor patru resturi de acid acetic, sub acţiunea uroporfirinogendecarboxilazei, formând *coproporfirinogen III,* care prin dehidrogenare formează *coproporfirina.*

Sub acţiunea aceleiaşi enzime asupra coproporfirinogenului III, vor fi decarboxilate resturile de acid propionic, iar radicalii etil vor fi dehidrogenaţi la radicali vinil, formându-se *protoporfirinogenul IX.* Acesta sub acţiunea protoporfirinogen-oxidazei se va dehidrogena formând *protoporfirina IX.* Sub acţiunea hemisintetazei, protoporfirina IX prin complexare cu Fe^{2+} formează hemul (*Fig. 18*).

Porfiriile sunt boli metabolice produse de defecte enzimatice - înnăscute sau dobândite - în procesul de biosinteză a hemului. Ele se caracterizează prin supraproducţia, acumularea şi eliminarea unor compuşi porfirinici şi precursori ai acestora. Acestea reprezintă porfiriile primare.

Porfiriile secundare survin în anumite boli şi în intoxicaţii.

În porfiriile primare defectele enzimatice pot fi localizate la nivelul mai multor ţesuturi dar mai frecvente sunt porfiriile hepatice şi porfiriile eritropoetice.

Porfiriile eritropoetice cuprind mai multe forme, în care metabolismul porfirinic este perturbat predominant la nivelul eritroblaştilor din măduva osoasă.

Porfiria eritropoetică congenitală sau boala Günther, o afecţiune rară, are la bază un dezechilibru funcţional între activitatea uroporfirinogen I-sintetazei şi cea a uroporfirinogen III-cosintetazei care

se soldează cu o supraproducţie de uroporfirinogen I. Boala se transmite autozomal recesiv.

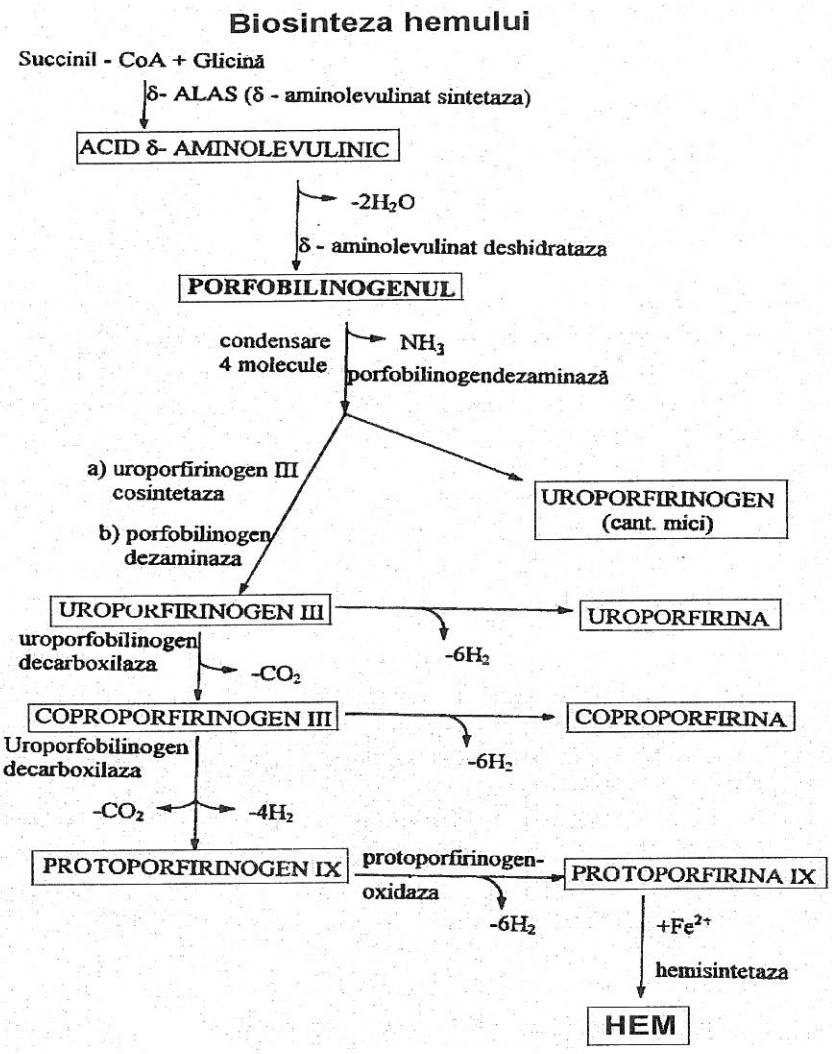


Fig. 18 – Biosinteza hemului

Coproporfiria eritropoetică se caracterizează prin fenomene de sensibilitate cutanată la lumină şi creşterea coproporfirinei III eritrocitare.

Protoporfiria este o formă mixtă hepatoeritropoetică datorată deficienţei de ferochelatază. Se caracterizează printr-o creştere marcată a protoporfirinei libere.

Porfiriile hepatice cuprind formele în care perturbarea metabolismului porfirinic predomină la nivelul ficatului. Dintre porfiriile hepatice cea mai frecvent întâlnită este *porfiria acută intermitentă*. Deficienţa enzimatică transmisă autozomal este la nivelul uroporfirinogen I-sintetazei eliminându-se cantităţi crecute de acid δ-aminolevulinic şi porfobilinogen.

Coproporfiria ereditară este produsă de un deficit de coproporfirinogen-oxidază, eliminându-se coproporfirina III prin urină şi fecale.

Porfiria variegata sau mixtă se transmite autozomal şi se datorează unei deficienţe la nivelul protoporfirinogen-oxidazei cu eliminare de coproporfirină şi protoporfirină.

Porfiria tardivă este o porfirie des întâlnită. Enzima deficitară este uroporfirinogen-decarboxilaza. Prin urină se elimină uroporfirină şi cantităţi mai mici de coproporfirină ceea ce face ca urina să fie închisă la culoare în timpul crizelor.

Porfiriile secundare cu eliminări de compuşi porfirinici pot apare în boli hepatice cronice, în unele tumori, anemie pernicioasă, anemie hemolitică, diabet zaharat cu acidoză, tuberculoză, boli infecţioase. Porfiriile secundare mai pot apare în unele intoxicaţii: saturnism, etilism, intoxicaţii medicamentoase (cu barbiturice, sedative, hipnotice, antiluetice), intoxicaţii cu benzen, tetraclorură de carbon.

Determinarea în laborator a porfirinelor se bazează pe faptul că soluţiile de porfirine absorb puternic în zona spectrală 696 - 410 nm, fiecare tip de porfirină având o bandă de absorbţie îngustă, caracteristică.

Porfobilinogenul se pune în evidenţă în urină şi prin culoarea roşie pe care o dă cu R. Ehrlich, compusul de culoare roşie rezultat nefiind extractibil în cloroform, spre deosebire de cel dat de urobilinogen.

Acidul delta-aminolevulinic (DAL) se poate determina în urină după separarea sa pe schimbători de ioni, apoi eluatul se tratează cu acetilacetonă. Se măsoară apoi extincţia produsului format după tratare cu R. Ehrlich.

Acidul delta-aminolevulinic se mai poate determina printr-o metodă rapidă, fără separare pe schimbători de ioni, mai ales în cazurile când se efectuează controlul în serii mari al muncitorilor cu expunere la plumb. Astfel, pirolul rezultat din condensarea DAL cu acetilacetona se extrage din soluţia apoasă cu acetat de etil. Substanţele care ar putea interfera rămân în faza apoasă iar în extras se face reacţia de culoare cu p-dimetilaminobenzaldehida (R. Ehrlich).

II.5. SEDIMENTUL URINAR

Urina normală, proaspăt emisă, este de obicei perfect transparentă. În stări patologice fie că urina se elimină la început tulbure, fie că după un anumit timp se formează un sediment care urmează să fie examinat la microscop. Dacă apariția sedimentului se face treptat într-o urină care la început era limpede, înseamnă că au participat substanțele care se găsesc în urină sub formă dizolvată. Această precipitare se produce datorită modificării temperaturii sau reacției urinii. Dacă urina este tulbure în momentul eliminării, ea conține în afara substanțelor dizolvate şi elemente insolubile: sânge, celule epiteliale, puroi etc.

Examenul microscopic se face pe sedimentul urinii proaspete, la cel mult 6 ore de la emisie. Dacă sedimentul este bogat se va lăsa urina în repaus într-un tub conic şi se va lua cu o pipetă Pasteur sediment din fundul tubului. Dacă urina este săracă în sediment, este necesară o centrifugare de 3 - 6 minute la 1500 - 2500 t/min. Se elimină supernatantul şi se lucrează pe sediment. Trebuie evitate centrifugările la turații mari pentru a nu distruge elementele figurate.

Sedimentul este format din elemente organizate şi neorganizate.

Elementele organizate. Sedimentul organizat se deosebeşte de cel neorganizat prin insolubilitatea lui la cald şi în prezența acizilor.

În cadrul acestui sediment se mai întâlnesc: elemente celulare, cilindri adevărați şi pseudocilindri.

În grupa elementelor celulare sunt cuprinse: celulele epiteliale, leucocitele, eritrocitele, cilindri urinari.

Celulele epiteliale. Celulele epiteliale pot proveni din stratul superficial (celule rotunde sau poligonale, cu unul sau mai mulți nuclei), stratul mijlociu (celule fuziforme); stratul profund (celule ovoidale alungite), uretră (celule cilindrice, alungite). Celulele din uretre sunt mai mici, fiziforme, iar cele din bazinete sunt celule mici, rotunde sau ovale, cu nuclei voluminoşi. Epiteliile renale prezintă celule rotunde sau poliedrice, în general izolate, cu protoplasmă granulară dacă provin din tubii contorți sau limpede dacă provin din ansa Henle.

Proveniența exactă a celulelor epiteliale este dificil de determinat. Prezența în urină a câtorva celule epiteliale nu are nici o semnificație patologică. Când acestea sunt în număr mare exprimă o descuamare considerabilă şi semnifică o inflamație. Dacă forma celulelor este bine păstrată şi caracteristică se poate presupune cu destulă probabilitate sediul procesului inflamator.

Eritrocitele apar sub forma unor discuri rotunde mici, cu contur precis, galbene când conțin pigmentul sanguin; când se mişcă microviza apar cu contur dublu. Cercetarea trebuie făcută pe urini proaspete. În

urinile concentrate acide ele se pot deforma devenind crenelate, iar în urinile alcaline se îmbibă devenind rotunde.

Leucocitele au aspectul unor globule sferice granulate de mărimi diferite, mai mari decât eritrocitele. Leucocitele au unul sau mai mulți nuclei şi pot fi izolate, în grămezi sau înglobate în cilindri. Ele sunt intacte în urina acidă şi deformate în urinile alcaline. Nucleii sunt de obicei distincți sau acoperiți cu granulații care dispar la adăugarea de 1 - 2 picături de acid acetic 3%.

În urina normală se găsesc 1 - 3 leucocite pe câmpul microscopic (100 - 200 mL/min). Prezența lor în număr mare - uneori o adevărată piurie - se întâlneşte în infecții urinare acute, TBC urinar şi o serie de procese degenerative ale aparatului urinar etc.

Cilindrii urinari sunt formațiuni proteice rezultate în urma precipitării unor produse organice în tubii distali sau colectori, în cursul unor afecțiuni renale. Forma pe care o capătă este a tubului unde a luat naştere şi apar în urină sub forma unor mase cilindrice alungite. Au dimensiuni variabile, dar mari în raport cu celelalte elemente ale urinii. Cilindrii sunt de două feluri: adevărați şi pseudocilindri.

Cilindrii adevărați

În general, cilindrii urinari sunt de origine renală, cu excepția celor de origine testiculară.

Cilindrii hialini sunt incolori şi omogeni, cu un contur puțin precis, scurți; uneori prezintă forme gigante. Apar în urină în diferite tipuri de nefrite, afecțiuni renale uşoare, stări febrile şi uneori proteinurie.

Cilindrii granuloşi sunt scurți, friabili, formați din granulații fine sau mai puțin fine provenite din degenerescența celulară. Sunt cei mai importanți, apar în procese patologice renale grave, degenerative (nefropatii acute şi cronice).

Cilindrii fibroşi prezintă aspect de reticuli speciali de fibrină de colorație gălbuie, de origine sanguină, ei indicând existența unei congestii renale.

Cilindrii grăsoşi conțin picături de grăsime conglomerate, frecvent se observă picături de grăsime care încarcă cilindrii hialini sau granuloşi. Apar în procese renale cronice sau subacute cu degenerescența grasă a elementelor renale, glomerulonefroze.

Cilindrii epiteliali. Se găsesc mai rar în urină. Conțin celule epiteliale din tubii renali aglomerate în cilindri, nuclei mari. Apar în urină în modificări patologice în tubii distali şi colectori, insuficiență tubulară acută, pielonefrite.

Cilindrii hematici sunt formați din eritrocite conglomerate din care unele au pierdut pigmentul. Prezența lor dovedeşte că sângele

provine chiar din rinichi. Se întâlnesc în nefrita hemoragică acută, ei indicând o glomerulonefrită.

Cilindrii leucocitari sunt formați din leucocite aglomerate în cilindri; adesea leucocitele se depun pe cilindrii de mucus sau hialini. Prezența lor denotă o pielonefrită.

Cilindrii ciroşi. Sunt formațiuni omogene, cu un luciu mat care îi deosebeşte de cilindrii hialini, sunt refringenți, de culoare uşor gălbuie, prezintă margini nete cu incizuri. Cilindrii ciroşi sunt un semn al unei leziuni grave a parenchimului renal şi sunt prezenți în urină în glomerulonefrita severă, pielonefrită, amiloidoză.

Pseudocilindrii

Pseudocilindrii pot fi de natură organică sau anorganică. Cilindrii formați din săruri se pot confunda cu cei granuloşi. Prin încălzire se dizolvă cei de urați, iar prin adăugare de acid acetic cei de fosfați. Aceşti pseudocilindri nu au semnificație patologică. Pseudocilindrii de natură microbiană se pot recunoaşte prin colorare bacteriologică.

Cilindroizii nu trebuie confundați cu cilindrii hialini. Au transparența lor, dar au aspect de panglici sau filamente, mai ales aplatizați şi striați longitudinal. Au diametrul inegal, adesea fiind ramificați. Nu au semnificație patologică, ei putându-se găsi şi în urinile normale.

Filamentele de mucus se prezintă ca nişte şuvițe lungi semănând cu cilindrii hialini, dar mai subțiri, asemenea unor panglici înguste spre capete.

Elementele celulare diverse

Celulele tumorale. Prezența unui neoplasm poate fi suspectată dacă urina conține sânge şi mici aglomerări de celule mononucleare. Uneori pot fi decelate fragmente de țesut tumoral prin colorarea sedimentului urinar cu albastru de metilen.

Levurile sunt rotunde sau ovale, de mărimi inegale, grupate câte două sau mai multe, au contur simplu şi nu sunt refringente.

Elementele neorganizate

Sedimentul neorganizat de *origine metabolică* sau minerală este alcătuit din elemente cristaline sau depozite de săruri amorfe. Se întâlnesc: acid uric, oxalat de calciu, urați, fosfați, carbonați, cristale de cistină, leucină, tirozină, xantină, rareori colesterol.

În urină uneori pot apare *cristale de origine medicamentoasă* ca de exemplu cristale de sulfamidă.

Substanțe birefringente apar uneori în urină în sindromul nefrotic, glomerulonefrită, glomeruloscleroza diabetică, amiloidoză, lupus

eritematos; apar cu aspect de „cruce de Malta" la microscopul cu lumină polarizată.

Probe chimice orientative. Se pot practica pe lama de microscop, făcând parte integrantă din examenul sedimentului pentru caracterizarea componentelor cristaline sau amorfe. În acest scop se pune o picătură din reactivul respectiv la marginea lamelei şi se lasă să pătrundă prin capilaritate în interiorul sedimentului. Putem avea următoarele situații:

a) Componente solubile în acid acetic 10%: urați, inclusiv cei de amoniu, fosfați, carbonați (cu efervescență), tirozină, leucină.

b) Componente insolubile în acid acetic 10%: acid uric, oxalați de calciu, sulfat de Ca, cistină, xantină, acid hipuric.

c) Componente solubile în HCl diluat: xantină, parțial urați, oxalatul de Ca, fosfați, carbonați, tirozină, leucină, cistină.

d) Componente solubile în NaOH 20%: acid uric, cistină.

Sedimentul urinar cantitativ

Determinarea cantitativă a sedimentului urinar organizat are ca scop numărătoarea elementelor patologice din urină şi în principal a leucocitelor şi eritrocitelor.

Determinarea cantitativă se practică azi după trei metode:

a) Metoda directă (Stansfeld şi Webb)

Această metodă dă cele mai mici erori şi este cea mai simplă. Se recoltează a 2-a urină de dimineață, pe nemâncate. După omogenizarea conținutului vasului de recoltare se centrifughează 10 mL urină, într-o eprubetă gradată, la 1 500 t/min timp de 5 minute. Se decantează 9 mL de supernatant, iar din mL de urină rămas după agitare se incarcă o celulă de numărat Bürker-Türk, se face media mai multor citiri.

b) Metoda Addis. Proba se practică pe urina din 12 sau 24 ore. Bolnavul este supus cu 24 ore înaintea recoltării unei cure de sete (regim alimentar obişnuit din care se reduce cantitatea de lichide ingerate). Scopul acestei măsuri este realizarea unei probe de concentrație, cu evitarea producerii unei hipotonii urinare, care duce la lizarea hematiilor şi cu evitarea alcalinizării care poate provoca liza cilindrilor.

După omogenizarea conținutului vasului de recoltare, se centrifughează 10 mL urină într-un tub de centrifugă gradat timp de 5 minute la 1500 t/min. Se decantează 9 mL din supernatant. Mililitrul de urină rămas, care corespunde unei concentrări de 10 ori a urinei inițiale, se agită bine pentru omogenizare. Se scoate o picătură din acesta, cu o pipetă Pasteur şi se introduce în celula de numărat, celula Fuchs-Rosenthal. După 5 - 10 min de repaus se face numărătoarea.

Valori normale:

La adult în 24 ore se elimină:

eritrocite până la 500 000
leucocite între 1 000 000 – 1 300 000
cilindri până la 5 000

La copii în 24 ore se elimină:

eritrocite până la 450 000
leucocite între 9 000-720 000
cilindri 0-6 000

c) Metoda Hamburger. Este o metodă rapidă la care numărătoarea elementelor patologice se face pe minut şi pe urina proaspăt emisă. Timpul de recoltare este la 3 ore. Tehnica se execută în continuare ca la celelalte două metode.

Valori normale:

hematii: 100 – 1 000/min.
leucocite: 2 000/min.

II.6. EXPLORAREA FUNCȚIONALĂ RENALĂ

În decurs de 24 de ore, compoziția şi concentrația urinii se modifică continuu, în funcție de cantitatea de lichide ingerate, de activitatea depusă, de alimentație şi medicație.

Rezultatele explorării funcționale renale, în special a probelor funcționale globale depind de corecta recoltare a urinii (vezi recoltarea urinii)

Explorările funcționale renale pot fi grupate în două categorii:

- probe funcționale globale;
- probe funcționale selective.

Probele funcționale selective permit studiul separat al funcțiilor glomerulare şi tubulare.

Probe funcționale globale

În acest grup se încadrează:

a) *examenul sumar de urină* care constă în determinarea volumului, aspectului, densității, identificarea elementelor anormale din urină şi sedimentul urinar. Examenul sumar de urină se poate efectua şi cu ajutorul *testelor rapide de investigație* (dipstick). Principalele variante se bazează pe folosirea de benzi de hârtie impregnate cu reactivi fixate pe un suport de plastic rigid, tablete sau comprimate de substanțe reactive, pulberi uscate din substanțe reactive, hârtii reactive. Cu ajutorul acestor teste se pot aprecia următorii parametrii : pH, densitate, proteine, glucoza, pigmenți sanguini, corpi cetonici, bilirubina, urobilinogenul,

nitriții, leucocitele şi se poate depista o infecție urinară şi sedimentul urinar;

b) determinarea electroliților;

c) dozarea amoniacului.

În paralel în sânge se vor efectua următoarele determinări: creatinină, uree, acid uric, electroliți, rezerva alcalină.

Probe funcționale selective

Explorarea funcțională a glomerulului: se determină mărimea filtratului glomerular prin stabilirea clearance-ului creatininei endogene, manitolului şi tiosulfatului de sodiu.

Fluxul plasmatic renal cu PAH (acid p-amino-hipuric).

Explorarea funcțională tubulară

- proba de diluție şi concentrație
- clearance-ul tubular de PSP (fenolsulftaleină): stabilirea capacității maxime de excreție a PSP
- măsurarea capacității maxime de secreție a PAH
- măsurarea capacității maxime de reabsorbție a glucozei.

Completarea explorării mecanismelor funcționale se face prin urografie, nefrogramă izotopică, renoscintigrafie, arteriografie, ecografie etc.

Clearance-urile renale

Clearence-ul renal reprezintă numărul de mL de plasmă epurați de o anumită substanță în unitatea de timp.

Clearence-ul unei substanțe (X) se calculează prin produsul dintre volumul urinar pe minut şi concentrația urinară a substanței (X), raportată la concentrația plasmatică a aceleiaşi substanțe, conform formulei:

$$C = \frac{U_x \, x V}{P_x}$$

unde:

C_X – clearance- ul (mL/min)

V – volum urinar

U_X – concentrația urinară a substanței (X) (mL/min)

P_X – concentrația plasmatică a substanței (X) (mL/min)

Efectuarea unui clearance necesită respectarea cu rigurozitate a condițiilor de prelevare a urinii, a unei perfuzii adecvate din substanța (X) pe care o administrăm bolnavului (pentru a asigura o concentrație cât

mai constantă a acesteia la nivelul plasmei), precum şi excutarea corectă a determinărilor de laborator.

În mod practic se urmăresc clearence-ul a două categorii de substanţe:

a) substanţe ce nu se secretă de către tubul contort. Clearence-ul acestor substanţe reprezintă filtratul glomerular.

b) substanţe ce sunt depurate complet. Clearence-ul lor reprezintă fluxul plasmatic renal.

Explorarea filtrării glomerulare

Explorarea filtrării glomerulare se efectuează cu o serie de substanţe care trebuie să îndeplinească mai multe condiţii: să fie filtrate prin glomerul, să nu fie reabsorbite sau secretate la nivelul tubilor, să nu fie metabolizate în organism sau să fie toxice pentru acesta, să poată fi dozate în sânge şi urină, să nu pătrundă în hematii sau să se fixeze pe proteinele plasmatice şi să fie ultrafiltrate în aceeaşi concentraţie ca în plasmă.

Substanţele folosite în acest scop sunt: inulina, manitolul şi tiosulfatul de Na.

Deoarece pentru toate aceste substanţe este necesar să se efectueze bolnavului o perfuzie care să realizeze o concentraţie plasmatică constantă a substanţei respective, de cele mai multe ori, în practică, filtratul glomerular se determină prin clearence-ul **creatininei endogene**, deşi o parte din creatinină trece în urină prin secreţie tubulară, ceea ce face ca valorile filtrării obţinute prin acest clearence să fie superioare celor obţinute cu ajutorul inulinei. Acest test este totuşi utilizat datorită simplităţii metodei şi datorită faptului că asigură un preţios element orientativ asupra stării funcţionale a glomerulului.

Creatinina are o concentraţie plasmatică şi urinară constantă, iar determinările de laborator fiind uşor de realizat, clearence-ul de creatinină endogenă a devenit o metodă clinică de mare rutină.

Clearence-ul creatininei endogene are ca principiu determinarea creatininei în sânge şi urină, concomitent cu măsurarea debitului urinar într-un timp limitat.

Eliminarea creatininei este independentă de alimentaţie, conţinutul în azot al proteinelor, debitul urinar şi activitatea musculară, ceea ce a permis calcularea unui „coeficient al creatininei":

$$\textit{Coeficientul creatininei} = \frac{\textit{Creatinină (mg/24 ore)}}{\textit{Greutate corporală (kg)}}$$

Pentru determinarea clearence-ului creatininei, în dimineața efectuării probei, bolnavul este reținut la pat conform indicațiilor generale. O jumătate de oră înainte de începerea testului, pacientul bea o cantitate de apă echivalentă cu 10 mL/Kgcorp, după care își goleşte vezica. Începând cu acest moment se cronometrează proba. Pentru determinarea creatininei se recoltează urina pe o perioadă - în medie de 4 ore - care poate fi prelungită până la 24 ore; în intervalul acesta, de obicei la sfârşitul perioadei, se prelevă şi o probă de sânge, se determină apoi concentrația creatininei în proba de sânge şi în proba (probele) de urină şi se introduce în formula cunoscută, V rezultând din împărțirea cantității de urină în mL, la numărul de minute în care s-a desfăşurat proba.

Valorile normale ale filtratului glomerular sunt considerate în medie 130 ± 15 mL/min, cu variații care depind de sex, vârstă, metoda de dozare.

S-au constatat diferențe între clearence-ul inulinei, tiosulfatului de sodiu şi cel al creatininei endogene, raportul clearence creatinină/tiosulfat şi clearence creatinină/inulină este de regulă supraunitar, ceea ce demonstrează că valoarea clearence-ului creatininei endogene este superioară celei a inulinei şi tiosulfatului.

Clearence-ul ureei

Constatând că între concentrația plasmatică şi urinară a ureei se poate stabili un raport de proporționalitate, în funcție de volumul urinar pe minut, van Slyke a introdus în practică prima probă funcțională renală, care se bucură de o largă utilizare. Pentru determinarea clearence-ului ureei se folosesc următoarele variante:

a) Proba pe un timp limitat. Bolnavul îşi goleşte vezica, la o anumită oră, notată cu precizie, după care i se dă să ingere 200 - 240 mL apă, după 60 minute urinează într-un vas (U_1), după care se prelevează un eşantion de sânge. Imediat începe ingerarea a încă 250 mL apă, iar la 60 minute urinează în alt vas (U_2). Se măsoară volumul separat al celor două eşantioane de urină raportat la minut (volumul urinar/60 = volum/min.) şi se determină concentrația ureei plasmatice şi a ureei din cele două probe (U_1, U_2). Clearence-ul ureei rezultă din formula:

$U_1 \times V_1/P$ şi respectiv $U_2 \times V_2/P$, rezultatul definitiv fiind media cifrelor obținute pentru cele două probe.

b) Proba pe 24 de ore. Bolnavul este pus să adune urina pe 24 de ore; la sfârşitul acestui interval se recoltează o probă se sânge şi se determină ureea plasmatică şi urinară.

Clearence-ul la uree prezintă variații în funcție de vârsta subiectului, regimul alimentar, ortostatism, eforturi mari, boli asociate, hipercatabolism, dar mai ales de diureză.

În condiții patologice se consideră că valorile cuprinse între 30 - 40 mL/minut ilustrează o alterare moderată a funcției renale, între 25 - 15 mL/min, alterări profunde, iar sub 15 mL/min avem de a face cu o insuficiență renală deosebit de gravă. Clearence-ul ureei este un examen comod de efectuat, intrat în rutina explorărilor renale, dar el furnizează elemente diagnostice şi prognostice pentru insuficiențele renale avansate şi mai puțin pentru cele incipiente. De asemenea nu s-a putut stabili o corelație exactă între filtratul glomerular şi clearence-ul ureei, în special în cursul insuficiențelor renale.

Fluxul plasmatic renal

Fluxul plasmatic renal (FPR) reprezintă volumul de plasmă care perfuzează cei doi rinichi în decurs de 1 minut şi se determină cu ajutorul clearence-ului acidului paraaminohipuric (PAH). Are la bază principiul Fick utilizat în cardiologie pentru aprecierea minut-volumului cardiac, aplicat însă la rinichi.

$$FPR = C/E$$

unde:

C – clearance-ul renal al unei substanțe;

E – extincția renală a substanței.

PAH-ul rămâne dizolvat în plasmă, nu pătrunde în globulele roşii, este neutru pentru organism, nu participă la procesele metabolice şi este complet eliminat de rinichi, atât prin filtrarea glomerulară cât şi prin secreție tubulară.

Fluxul plasmatic renal se va calcula în cazul PAH după formula:

$$FPR = \frac{U_{PAH} \times V}{P_{PAH}}$$

Pentru determinarea fluxului plasmatic renal este necesar să se cunoască concentrația PAH-ului în vena renală (P_{PAH}) procedeu destul de dificil de realizat şi care necesită cateterizarea venei.

Fluxul plasmatic renal mai poate fi determinat şi cu ajutorul unor substanțe marcate cu izotopi radioactivi: Iodopiracet (Diodrast) I^{131}, Hipuran I^{131} etc., dar acestea necesită o dotare tehnică specială şi rezultatele sunt destul de dispersate.

Semnificația fiziopatologică a probelor de clearence

Clearence-urile renale prezintă abateri destul de mari de la valorile medii, atât în condiții fiziologice cât şi patologice. Aceste variații se întâlnesc în special la clearence-ul creatininei endogene şi al PAH-ului.

Variațiile fiziologice sunt în funcție de sex, greutate corporală, eforturi, temperatură, dietă şi vârstă.

Valorile patologice ale clearence-urilor renale pot fi întâlnite atât în boli renale cât şi extrarenale.

Bolile parenchimului renal sunt în general însoțite de reducerea filtrării glomerulare cât şi a fluxului plasmatic, fără să se poată stabili un raport de proporționalitate între cei doi parametri.

Glomerulonefrita acută se însoțeşte de reducerea filtrării glomerulare cât şi a fluxului plasmatic, ceea ce face ca fracția filtrată să fie scăzută. Aceste modificări sunt consecința excluderii unei părți importante din suprafața filtrantă glomerulară, în timp ce se vehiculează cantități normale de plasmă.

Determinările clearence-urilor nu prezintă importanță în puseurile de glomerulonefrită acută, mai ales în cazurile de retenție hidrosalină. Probele sunt însă importante în urmărirea procesului de cronicizare sau vindecare, precum şi în evaluarea prognosticului. Existența unui filtrat glomerular normal cu o fracție de filtrare normală sugerează un prognostic favorabil; valorile clearence-urilor cresc în formele care se cronicizează.

Glomerulonefritele cronice sunt însoțite de reduceri semnificative dar variabile ale clearence-urilor renale, în funcție de numărul unităților funcționale distruse. Fluxul plasmatic determinat cu ajutorul PAH-ului, este de regulă micşorat proporțional cu gradul leziunilor.

Filtratul glomerular are valori micşorate începând cu a 3-a, a 4-a săptămână după instalarea procesului patologic, dar nu s-a stabilit o relație directă între masa de nefroni şi valoarea filtratului.

Pielonefritele cronice se caracterizează printr-o mare variație a probelor de clearence şi aceasta se datoreşte faptului că procesul patologic interesează cu predominență tubii renali, ceea ce explică reducerea pronunțată a clearence-ului PAH.

Insuficiența renală acută este mai greu de explorat prin metoda clearence-urilor, deoarece nici filtrarea, nici secreția nu asigură un volum suficient de urină. În faza anurică, atât clearence-urile cât şi excreția sunt practic suprimate. În faza poliurică ambele teste sunt deosebit de reduse datorită insuficienței funcționale a tubilor. În realitate clearence-ul PAH-ului este mult mai mic decât fluxul plasmatic real, determinat cu ajutorul altor metode (coloranți). Clearence-ul glomerular este aproape zero, iar excreția PAH practic suprimată. La bolnavii cu evoluție favorabilă clearence-urile se normalizează în aproximativ 6 luni.

Suferințele extrarenale pot antrena modificări de diverse intensități ale nefronului puse în evidență prin modificarea valorilor clearence-urilor. Astfel în: deshidratări, ciroze hepatice, hipotiroidism, hipo- şi hipertensiune arterială, ateroscleroză, în boli cardiace congenitale, coma diabetică, în cursul anesteziei, filtratul glomerular şi fluxul plasmatic sunt micşorate.

Controlul funcției tubulare

Explorarea capacității maxime de reabsorbție tubulară

Pentru efectuarea acestui test trebuie utilizată o substanță care se reabsoarbe în totalitate la nivelul tubilor. Din acest motiv metoda utilizează de regulă glucoza care este reabsorbită la nivelul tubilor în proporție de 100% şi în mod normal nu se găseşte în urină. Dar la un nivel plasmatic foarte ridicat peste 1,80 g‰ capacitatea tubulară este depăşită, ceea ce va duce la prezența glucozei în urină. Se poate determina plafonul de reabsorbție tubulară, prin încărcarea tubilor renali cu o cantitate de glucoză care să depăşească cu minimum 50% capacitatea lor maximă de reabsorbție - TmG.

Pentru explorarea capacității maxime de reabsorbție tubulară, bolnavului i se recoltează o probă de sânge pentru a cunoaşte glicemia de bază, apoi se injectează intravenos în decurs de 10 minute 100 - 120 g glucoză în 300 - 400 mL apă distilată, cu un ritm mai rapid în primele 5 minute. După terminarea injectării, se recoltează 5 probe succesive de sânge la intervale de 8 - 10 minute fiecare. La mijlocul intervalului dintre recoltarea a două probe sanguine se prelevează câte o probă de urină prin sondă vezicală (în total 4 probe), fiecare prelevare fiind urmată de spălarea vezicii cu ser fiziologic. Se dozează glucoza în probele de sânge şi urină.

Într-o altă variantă se poate proceda astfel: se introduce un cateter în vezică şi se recoltează urina care se păstrează ca probă

martor. Se prelevează o probă de sânge pentru determinarea glicemiei de bază, apoi în decurs de 10 minute se injectează intravenos un amestec de tiosulfat de Na 10% (100 mL) (la fel ca pentru determinarea clearence-ului), glucoză 33% în cantitate de 60 mL. În continuare se perfuzează o soluție de glucoză hipertonă cu 80 - 100 picături/minut. Se prelevează în total 4 - 5 probe de sânge după 15 - 20 minute de la începutul perfuziei, la intervale de 10 minute, colectându-se de fiecare dată şi urina. Pentru a avea un debit urinar corespunzător, la începutul probei se dă bolnavului să ingere 400 - 500 mL de apă sau ceai neîndulcit. Se dozează glucoza şi tiosulfatul în plasmă (P) şi în urină (U).

Capacitatea maximă de reabsorbție a glucozei (TmG) se calculează după formula:

$$TmG = PG \times F - UG \times V,$$

din care se vede că TmG rezultă prin scăderea cantității de glucoză excretată în urină în decurs de 1 minut, din concentrația filtratului glomerular. Pentru determinarea filtrării glomerulare se poate utiliza şi inulina şi creatinina endogenă.

Valorile normale ale TmG sunt cuprinse între 350 - 400 mg/minut, fiind ceva mai reduse la femei.

Pentru controlul reabsorbției tubulare, fără cleareance, se face proba diluției şi concentrației urinii.

Explorarea capacității de diluție şi concentrare

Un rinichi sănătos are capacitatea de a produce o urină mai diluată sau mai concentrată, în funcție de gradul de hidratare al organismului.

Explorarea capacității de diluție şi concentrare are două etape: diluția şi concentrația.

Proba diluției. Bolnavul îşi goleşte vezica urinară, după care bea în decurs de 30 de minute 1500 mL apă sau ceai. Din 30 în 30 de minute, timp de 4 ore, se recoltează probe de urină în vase separate; fiecare probă este măsurată precis şi i se determină densitatea. Bolnavul rămâne culcat tot timpul explorării. Un rinichi sănătos este capabil să elimine întreaga cantitate de lichid ingerată (sau chiar mai mult), iar densitatea urinii ajunge la valori de 1002 - 1001. În cazul insuficienței renale volumul de urină este scăzut, densitatea fixându-se în jur de 1010 în toate probele.

Proba diluției se mai poate efectua astfel: subiectul explorat îşi goleşte vezica urinară seara la culcare. Dimineața urinează din nou, peste urina colectată în timpul nopții. Această urină corespunde perioadei nocturne. Imediat după golirea vezicii în timp de 15 minute bea

600 mL apă şi rămâne culcat tot timpul explorării. Se recoltează urina timp de 5 ore, din oră în oră. Fiecărei probe i se determină volumul şi densitatea. O pesoană normală elimină în mod obişnuit în primele 2 ore o cantitate egală sau mai mare de urină faţă de lichidul ingerat, de asemenea volumul de urină creşte considerabil în raport cu urina nocturnă.

Metoda diluţiei nu se poate aplica în cazul glicozuriei, poliuriei şi la edematoşi.

Proba concentraţiei poate fi efectuată în continuarea probei de diluţie sau independent.

În acest scop, bolnavul nu ingeră lichide timp de 18 ore, la fiecare 3 - 4 ore prelevându-se câte o probă urinară căreia i se determină volumul şi greutatea specifică.

Pentru exactitatea metodei, bolnavului i se administrează cu 1 - 2 zile înainte de probă o alimentaţie completă.

Proba de concentraţie este contraindicată bolnavilor edematoşi, oligurici cât şi la cei cu diabet insipid.

Capacitatea funcţională normală a rinichiului poate fi afirmată în cazul unui volum urinar sub 800 mL şi o densitate de minimum 1 025 la cel puţin una din probe. În cazul insuficienţelor renale densitatea maximă a urinii nu depăşeşte 1 018; de regulă se consideră că o densitate sub 1 022 înseamnă distrugerea a cca jumătate din numărul nefronilor.

Determinarea osmolarităţii urinii

Determinarea osmolarităţii urinii se efectuează după o restricţie hidrică de 14 - 16 ore.

Pe urina din două ore se determină osmolaritatea, prin una din metodele obişnuite, punct crioscopic, rezistivitate, iar rezultatele se exprimă în mOsm/l. Microosmometre automatizate permit determinarea punctului crioscopic într-un volum redus de lichid (0,15 mL) şi rapid (630 sec.).

O dată cu prelevarea probei de urină se obişnuieşte să se recolteze şi sânge, ceea ce permite să se calculeze clearance-ul osmolar (Cosm) şi clearance-ul apei libere C_{H_2O}.

Osmolaritatea urinii (50 – 1 400 mOsm) oscilează în funcţie de hidratarea organismului şi este strâns corelată cu concentraţia vasopresinei plasmatice.

După o restricţie hidrică de 14 ore osmolaritatea urinii trebuie să fie mai mare de 850 Osm/L, iar raportul osmolaritatea urinii/osmolaritatea plasmei, numit gradient osmotic, trebuie să fie mai mare decât 3. În diabetul insipid osmolaritatea urinară nu depăşeşte pe cea plasmatică.

Explorarea secreției tubulare

Pentru explorarea secreției tubulare cel mai adesea se utilizează fenolsulfonftaleina (PSP) şi PAH-ul a căror secreție are la bază o serie de mecanisme specifice tubilor renali şi datorită faptului că poate fi efectuată cu uşurință.

Proba de fenolsulfonftaleină (PSP). Bolnavului i se injectează dimineața pe memâncate 1 mL soluție PSP de 0,6%, după care este pus să urineze la 15 şi 70 minute (nu este nevoie ca înainte de probă să fie golită vezica urinară) şi se determină colorimetric cantitatea de PSP din cele două probe de urină. O persoană sănătoasă elimină 20% în primele 15 minute şi 55 - 70% în 70 minute din cantitatea de colorant injectată. Valori scăzute se întâlnesc în nefroza lipoidă şi în cazul existenței unor procese care împiedică drenarea urinii.

Testul PSP nu este influențat de debitul urinar (decât în cazuri extreme) sau în prezența proteinuriei, dar bolile hepatice, obstrucțiile căilor urinare, cât şi hiperhidratările de orice natură modifică radical rezultatele.

Între valorile testului PSP, pe de o parte şi filtratul glomerular şi fluxul plasmatic, pe de altă parte, există o corelație lineară, utilă în clinică.

II.7. MODIFICAREA PARAMETRILOR BIOCHIMICI ÎN CÂTEVA BOLI RENALE

Cunoaşterea perturbărilor biochimice în bolile renale permite punerea diagnosticului, urmărirea evoluției maladiei şi aprecierea unui regim dietetic adecvat. Ele pot completa util examenul clinic, explorarea radiologică şi scintigrafia sau biopsia renală. Cu certitudine, într-un număr mare de maladii este important a obține informațiile cele mai precise asupra funcționării rinichilor.

Abordarea bolii renale necesită cunoaşterea sindroamelor specifice pe baza unor modificări ale constantelor biochimice cum ar fi: prezența sau absența azotemiei, modificările examenului de urină, tulburările electrolitice, apariția elementelor anormale în urină, volumele anormale de urină, etc.

Insuficiența renală acută

Insuficiența renală acută (IRA) este definită ca un sindrom clinic şi umoral realizat de alterarea rapidă, totală sau parțială, temporară sau definitivă a funcției renale. În mod constant creşte ureea (peste

100 mg%) şi creatinina plasmatică (peste 2 mg%). Diureza de obicei este redusă ajungându-se la oligurie sau anurie.

Sindromul IRA poate fi consecinţa unor tulburări prerenale, renale şi postrenale.

IRA prerenală (sinonime: oligurie funcţională, nefropatie funcţională) este cea mai frecventă cauză de azotemie acută datorată diminuării filtrării glomerulare cu aproximativ 50% dar cu păstrarea integrităţii funcţionale şi anatomice tubulare. Ea se poate datora unei hemoragii, scăderii volumului circulant, debitului cardiac scăzut sau obstrucţiei arterei renale. Antiinflamatoarele nesteroidiene (AINS) pot produce azotemie funcţională prerenală, în special la pacienţii cu IRC, sindrom nefrotic, ciroză.

IRA renală („intrinsecă") este determinată de necroza tubulară acută (NTA), leziuni parenchimatoase renale, boli renovasculare, glomerulonefrită.

IRA postrenală este datorată obstrucţiei urinare prin obstacole mecanice, inflamatorii ale căilor urinare extrarenale. Astfel, cauzele postrenale care pot bloca tubii renali, sunt: cristale de acid uric, oxalaţi, sau lanţuri uşoare de imunoglobuline (în mielomul multiplu) sau căile urinare extrarenale la nivelul ureterelor, a vezicii urinare sau uretrei prin procese obstructive sau sclerozante (litiază ureterală, cheaguri de sânge, tumori ale organelor vecine.

Pentru a produce o IRA obstrucţiile căilor urinare superioare (supravezicale) trebuie să fie bilaterale sau pe rinichi unic. Funcţia renală se reface odată cu înlăturarea cauzei obstrucţiei.

IRA este deci un sindrom cu numeroase cauze, cu mecanisme variate. Dar cea mai frecventă formă întâlnită în practica medicală este cea echivalentă cu necroza tubulară acută (NTA).

Manifestările clinice pot fi de intensităţi variate, dar există anumite caractere tipice şi o evoluţie în mai multe stadii:

1. *stadiul de debut*, sau preanuric, reprezintă faza critică, faza instalării leziunilor ce durează de la ore până la 3-5 zile. Manifestările clinice ţin de agentul cauzal. Semnele clinice cele mai frecvent întâlnite sunt: scăderea tensiunii arteriale, manifestări digestive (greţuri, vărsături, mai ales în IRA toxice), icter hemolitic (în IRA toxică, transfuzională). Semnele renale se caracterizează prin dureri lombare şi o scădere rapidă a diurezei (în decurs de 24-48 ore) (oligurie, anurie).

Examenele de laborator indică o scădere rapidă a clearance-ului de creatinină (sub 20 mL/oră) ,scăderea concentraţiei ureei urinare şi creşterea rapidă a ureei sanguine (peste 100mg%).

2. *în faza oligoanurică* cu durata medie de 5-15 zile, persistă semnele clinice ale etapei precedente, care se pot intesifica.

Oligoanuria se întâlneşte la majoritatea bolnavilor. Oligoanuria duce la *hidratare globală* dacă aportul de apă este superior pierderilor sau *hiperhidratare extracelulară*, cu edeme, dacă aportul sodic este crescut.

- *Manifestările respiratorii* constau în apariția dispneei, respirația de tip Küssmaul sau Cheyne-Stockes se întâlneşte în condițiile unei retenții azotate foarte marcate şi/sau a unei acidoze metabolice severe. La unii pacienți apare „plămânul uremic" (plămânul umed) favorizat de retenția hidrosalină şi insuficiență ventriculară stângă.
- *Manifestările neurologice* mai frecvente sunt: astenia, somnolența, crampe musculare, crize convulsive (ca urmare a hiperhidratării).
- *Manifestările digestive* sunt frecvente şi se datorează eliminării ureei prin mucoase, unde este degradată la amoniac prin bacteriile saprofite. Simptomele digestive sunt: greață, anorexie, vărsături, diaree, stomatite, miros amoniacal al respirației (*foetor uremicus*).
- *Manifestările cardiovasculare* sunt legate de complicațiile IRA. Hiperhidratarea generează hipertensiune arterială şi insuficiență cardiacă. Tulburările cardiovasculare sunt generate de dezechilibrul hidroelectric cel mai frecvent datorită hiperpotasemiei uremicilor.

Date de laborator

- *Retenția azotată* reprezintă semnul caracteristic, acesta fiind consecința atât a suspendării funcției renale cât şi a catabolismului proteic crescut (distrugeri tisulare, infecții, hemoliza). *Ureea* şi *creatinina* serică sunt crescute. Creşterea ureei este în medie de 30-60 mg/zi, dar poate depăşi şi 100 mg/zi în formele hipercatabolice. Paralel cresc şi acizii aminați şi *acidul uric.*
- *Tulburările hidroelectrolitice. Determinarea electroliților indică:*

- creşterea: potasiului, magneziului, fosfaților, sulfaților şi

- scăderea inconstantă: sodiului, clorului şi calciului ionizat.

- *Echilibrul acido-bazic. Bolnavii cu IRA prezintă acidoză metabolică ca urmare, în primul rând a suspendării eliminării renale a fosfaților, sulfaților şi a H+, şi în al doilea rând a unui catabolism crescut.*
- *Modificări hematologice. Hemograma indică în mod constant o stare de anemie (produsă prin hemoliză, pierderi de sânge şi inhibiție medulară asociată cu leucocitoză şi neutrofilie.*

- *Examenul urinii*

- *sedimentul urinar identifică hematii, leucocite, cilindrii granuloşi maronii, "murdari" şi celule epiteliale tubulare renale, libere sau incluse în cilindrii;*
- *poate fi prezentă proteinuria în cantitate redusă (proteinurie de tip tubular);*
- *raportul Na+/K+ este supraunitar;*
- *ureea urinară şi creatinina urinară sunt scăzute.*

3. Faza de reluare a diurezei survine după aproximativ 15 zile de la instalarea oligoanuriei şi începe când volumul urinii depăşeşte 1 000 mL şi este eficientă când azoturia depăşeşte 20 g/24 ore. Într-un interval de 2-7 zile se ajunge la diureză de 2 000-4 000 mL/zi, dar variază în funcţie de aportul hidric.

- *Semne urinare.* Densitatea urinii, ureea şi electroliţii sunt scăzute. Deşi volumul urinar este mare în perioada de poliurie precoce, ureea sanguină nu scade. Aceasta se normalizează în aproximativ două săptămâni de la debutul poliuriei. În sedimentul urinar se observă hematii, leucocite, germeni. Starea clinică a bolnavilor se ameliorează lent, normalizarea completă şi funcţională (anemie, clearance-ul, probe de concentrare) instalându-se după 4-6 luni.

4. Faza de restituţie durează, în cazurile cu evoluţie favorabilă, în jur de 3-12 luni, la vârstnici 1-2 ani.

Insuficienţa renală cronică

Insuficienţa renală cronică (IRC) defineşte ansamblul modificărilor funcţionale renale în cursul pierderii definitive a funcţiei renale, care se manifestă prin semnele şi simptomele cunoscute sub numele de **uremie**. Spre deosebire de IRA ,în care vindecarea este frecventă, IRC este progresivă şi ireversibilă şi poate duce la pierderea totală a nefronilor. Alterarea funcţiilor excretorii şi endocrine ale parenchimului renal se instalează în luni şi ani de zile.

Cauzele frecvente ale IRC sunt: nefropatia diabetică, hipertensiunea, glomerulonefrita, pielonefrita cronică, nefropatii vasculare (nefroangioscleroza benignă, malignă, tromboza venelor renale, obstrucţii ale arterelor renale) distrugeri extensive ale parenchimului renal (rinichi polichistic, tumori renale, afecţiuni inflamatorii specifice).

Consecinţele IRC şi uremia au efecte nocive asupra funcţiilor şi metabolismului celular şi asupra volumului şi compoziţiei lichidelor biologice.

Odată cu pierderea progresivă a nefronilor capacitatea rinichilor de a concentra urina este scăzută, ducând la *izostenurie* cu *poliurie* şi *nicturie*. Ulterior se instalează scăderea filtrării glomerulare cu retenție de substanțe, în special cataboliții proteinelor. Cât timp acestea se mențin la un nivel moderat crescut în plasmă, homeostazia este menținută în limite normale şi dacă rinichiul nu este supus suprasolicitărilor el este „eficient".

În stadiile terminale când numărul nefronilor scade foarte mult, homeostazia nu se mai poate realiza, rinichiul devine ineficient şi IRC intră în faza decompensată.

Există diverse clasificări evolutive ale IRC care obişnuit se fac pe baza unor criterii de laborator (uree şi creatinină serică, excreția de PSP, valorile filtrării glomerulare, a capacității de concentrație) şi a tabloului clinic (manifestări respiratorii, cardio-vasculare, nervoase, osteo-articulare). Cea mai utilizată clasificare este pe stadii de evoluție:

- în *stadiul* I probele funcționale glomerulo-tubulare sunt perturbate dar homeostazia este nemodificată. În stadiul I, când mai mult de 50% din numărul inițial al nefronilor se află în funcțiune, manifestările clinice lipsesc. Numai probele funcționale pun în evidență existența IRC prin evidențierea clearence-ului creatininei în jur de 70 mL/min şi o scădere a capacității de concentrare a urinii;
- în *stadiul II* funcțiile glomerulo-tubulare se alterează mai pronunțat, homeostazia se realizează inițial prin poliurie –diureză osmotică electrolitică, apoi prin retenție azotată (ureea contribuie şi ea la poliurie). Homeostazia începe să se modifice, apar tulburări electrolitice şi acido-bazice. În stadiul II se mai află în funcțiune 35-50% din numărul inițial de nefroni, clearance-ul creatininei este în jur de 50 mL/min şi scade capacitatea de concentrare a urinii (d = 100) şi apare nicturia. În sânge valorile ureei şi a creatininei sunt crescute (ureea 50-100 mg% şi creatinina 1,5-1,8 mg%). Stadiul se numeşte insuficiență renală cronică compensată prin poliurie şi retenție azotală fixă. În general, acest stadiu are o durată lungă, de ordinul mai multor luni şi ani;
- în *stadiul III* retenția azotată şi celelalte modificări ale constantelor de laborator se accentuează şi tabloul clinic devine polimorf. În stadiul III, doar 15-30% din numărul inițial de nefroni se mai află în funcțiune. Clearance-ul creatininei nu depăşeşte 20-30 mL/min, iar capacitatea de concentrare a urinii este complet pierdută, urina având o densitate de 1 010-1 020 (izostenurie). În acest stadiu apar toate manifestările clinice ale sindromului, din acest motiv se numeşte şi IRC clinic manifestă, asemănătoare cu cele din stadiul IV;
- în *stadiul IV*, faza finală, homeostazia este profund modificată, se instalează sindromul clinic complex „uremia". În acest stadiu, denumit stadiu „*uremic*", mai puțin de 10% din numărul inițial de

nefroni se mai află în funcțiune, clearance-ul creatininei are valori între 3-15 mL/min şi capacitatea de concentrare a urinii este pierdută (izostenurie, subizostenurie).

Manifestări clinice

- *semnele generale* sunt necaracteristice: astenie ,cefalee, stare de slăbiciune.
- *diureza* este inițial normală, apoi bolnavii parcurg o perioadă de poliurie (cu polidipsie), nicturie, apoi diureza se reduce. Oligurie se instalează în stadiile avansate, iar anuria excepțional.
- Manifestări *cardio-vasculare*
  - în 60-80% din cazuri este prezentă hipertensiunea arterială (HTA)
  - tulburările de ritm, insuficiența cardiacă se datoresc atât HTA, anemiei, modificărilor hidro – electrolitice şi acido- bazice, cât şi „toxinelor uremice".
  - Ateroscleroza este prezentă datorită tulburărilor metabolismului lipidic şi glucidic şi HTA. Ea este accelerată la pacienții dializați.
- Manifestările *respiratorii* sunt datorate acidozei metabolice şi hiperhidratării şi sunt reprezentate de dispnee, respirație Küssmaul Cheyne-Stokes. Se mai poate întâlni „plămânul uremic" (umed) şi frecvent bronhopneumonia.
- Manifestări *digestive*: limba încărcată, anorexie ,vărsături, constipație alternând cu diaree, hemoragii datorită ulcerațiilor superficiale („gastroenterita uremică"). Unii bolnavi prezintă o halenă caracteristică „foetor uremicus", consecința transformării ureei în amoniac.
- Manifestări *osteo-articulare*. Pe măsură ce boala renală avansează, scade filtrarea glomerulară care antrenează creşterea fosforului şi scăderea calciului total seric, ceeea ce duce la o creştere a secreției de parathormon. Hiperproducția de hormon paratiroidian, acidoza metabolică, alterarea metabolismului vitaminei D datorită diminuării sintezei de către rinichi a formei active (dihidroxivitamina D), pierderea excesivă de calciu prin fecale, duc la apariția tulburărilor osoase în IRC (osteo-distrofia renală).
- Manifestări *cutanate*. În majoritatea cazurilor tegumentele sunt uscate şi se descuamează uşor datorită malnutriției proteice. Se remarcă o colorație galbenă a tegumentelor, ca o consecință pe de o parte a anemiei, pe de altă parte a retenției de urocromi, pruritul uremic şi echimozele.
- Manifestările *neuro-psihice* se manifestă mai ales în stadiile finale prin lipsă de decizie, lipsa capacității de concentrare, depresie,

iritare, agitație. În final se poate instala coma uremică. Aceste simptome se ameliorează prin dializă.

Ureea are o toxicitate minimă. Rol toxic important se atribuie derivaților acidului guanidin succinic, a unor „toxine uremice", „metaboliți toxici" (amine aromatice şi alifatice), fenol şi derivați ai acestuia şi substanțe cu greutate moleculară medie (500-5 000 daltoni) („middle molecules").

Date de laborator

Indicatorul cel mai precoce şi fidel al limitării funcției renale este creşterea creatininemiei.

- în sânge retenția cataboliților proteici uree, creatinină, acid uric, este proporțională cu gradul insuficienței renale. Valorile ureei sanguine se situează între 150-500 mg%, iar ale creatininei între 3-15 mg% (eventual mai mult). Acidul uric creşte de asemenea şi se corelează uneori cu manifestările articulare de gută.
- *electrolitic* se înregistrează valori *scăzute* ale: sodiului, (în stadii terminale), a calciului şi valori *crescute* ale: magneziului, fosfaților, sulfaților, clorului, potasiului.
- *Tulburările echilibrului acido-bazic* se manifestă ca acidoză metabolică.
- *Explorarea metabolismului glucidic* arată la aproximativ 50% dintre bolnavi o curbă de toleranță la glucoză de tip diabetic.
- *Explorarea metabolismului lipidic* arată o hipertrigliceridimie şi creşterea prebetaliproteinelor.
- *Examinările hematologice* arată o anemie normocromă, normocitară datorită hemolizei (prin „toxine uremice") şi reducerii eritropoezei (scade eritropoetina).

Leucocitele sunt crescute iar trombocitele moderat scăzute.

Timpul de sângerare (TS) prelungit, activitatea scăzută a factorului III plachetar, uşoara trombocitopenie şi modificările funcției plachetare pot duce la apariția sindromului hemoragipar.

- *examenul de urină* evidențează o proteinurie redusă (1,5 g/24 ore), prezența cilindrilor hialini, granulari, uneori hematurie şi leucociturie şi/sau bacteriurie.

Creşte: concentrația sodiului urinar,

Scade: ureea urinară şi creatinina urinară.

- *probele funcționale renale*: clearance-ul creatininic, excreția de PSP, proba concentrației sunt modificate în funcție de stadiul evolutiv al IRC.

Alături de examenul de laborator sunt necesare şi alte determinări care să pună în evidență complicațiile cardio-vasculare, osoase, nervoase. De asemenea se efectuează explorări radiologice şi

echografice pentru măsurarea dimensiunii rinichilor. Rinichii sunt cu atât mai mici cu cât IRC este mai avansată (cu excepția rinichiului polichistic).

Hemodializa şi dializa peritoneală

Când tratamentul medicamentos şi dietetic al IRC sunt insuficiente pentru menținerea în viață a bolnavilor se aplică metodele de epurare extrarenală şi transplantul renal.

Hemodializa şi dializa peritoneală urmăresc suplinirea funcției renale şi prin aceasta menținerea homeostaziei în limite cât mai aproape de normal. Metoda se bazează pe perfuzarea sângelui pacientului după dializarea acestuia printr-o membrană.

Dializa peritoneală foloseşte ca membrane semipermeabile peritoneul şi dializează produsele toxice din sânge cu ajutorul unei soluții de dializă adecvată, reînnoită intermitent. Intrarea şi drenarea soluției (1-3 L), la diverse intervale (2-3-6 ore) se face cu ajutorul unor catetere speciale, implantate chirurgical în peretele cavității abdominale. Dializa peritoneală este utilizată în IRA şi în ultimul timp în IRC.

Prin *hemodializă* sângele heparinizat iese din artera bolnavului, intră în dializor, unde vine în contact prin intermediul unei membrane semipermeabile cu lichidul de dializă şi apoi se reîntoarce printr-o venă. La nivelul membranei au loc schimburile transmembranare prin procese de ultrafiltrare, dializă, osmoză.

La bolnavii cu IRC hemodializa se aplică temporar sau definitiv. Când funcția rinichilor este compromisă total cu valori ale creatininei serice de 10-12 mg%, ale ureei serice mai mari de 300 mg% şi clearance-ul creatininic sub 5 mL/min, hemodializa se face continuu de 2-3 ori pe săptămână timp de 4-8 ore.

Glomerulonefrita acută

Glomerulonefritele sunt afecțiuni care interesează structura şi funcția diverselor elemente ale glomerulului şi sunt cea mai frecventă cauză a insuficienței renale cronice.

Există o multitudine de cauze care pot genera glomerulonefrita acută (GA). Etiologia cea mai frecventă este cea infecțioasă. *Factorii infecțioşi bacterieni* reprezintă cauza cea mai frecventă a sindromului nefrotic acut care este precedat de un episod infecțios respirator,

cutanat. Germenul cel mai frecvent întâlnit este *streptococul hemolitic* din grupul A. Şi alți germeni mai pot fi cauza acestei maladii, cum sunt: pneumococul, meningococul, stafilococul; *virusuri*: hepatita B, rujeolă, varicelă, parotidită epidemică, herpes; *parazitoze*: malaria, trichineloză; în *alergii*: după înțepături de insecte, muşcături de şarpe, unele medicamente, în *boli endocrine* şi *metabolice*: diabet zaharat, hipertiroidism, în boli de *sistem*: lupus eritematos diseminat, vasculite.

Patogeneza glomerulonefritei acute prin mecanisme autoimune sunt cele mai frecvente şi anume prin complexe imune, antigen-anticorp. (asociate cu infecții sau boli de sistem), complexe care se depun în glomerul. Depunerea preferențială renală se explică prin suprafața glomerulară mare şi presiunea crescută care se găseşte la acest nivel (de patru ori mai mare decât în alte capilare). Depunerea complexului imun la nivelul glomerulului declanşează o serie de mecanisme cum sunt:

- activarea complementului, a prostaglandinelor, a histaminei şi angiotensinei II;
- atragerea polimorfonuclearelor, limfocitelor, trombocitelor;
- fenomene de coagulare intravasculară cu depunere de fibrină.

Aceste mecanisme antrenează o serie de modificări la nivelul glomerulului: creşterea permeabilității, proliferarea celulară şi/sau liza celulară, care vor induce diferite manifestări clinice.

Glomerulonefrita acută poststreptococică

Se manifestă cel mai frecvent în copilărie. Aproximativ în 2/3 din cazuri bolnavii prezintă cu 1-4 săptămâni înaintea G.A. o infecție a căilor aeriene superioare (faringite, laringite, amigdalite, otite, sinuzite, bronşite) sau mai rar infecții cutanate cu streptococ, reumatism poliarticular sau scarlatină. Diagnosticul se bazează pe o cultură faringiană sau cutanată pozitivă, creşterea titrului de anticorpi şi scăderea complementului seric.

Manifestările clinice. Faza de latență este de 1-4 săptămâni şi se caracterizează prin astenie. Faza de stare constă în asocierea mai multor sindroame glomerulare instalate brusc. Sindromul edematos predomină la nivelul feței, a membrelor inferioare, regiunea lombară şi în mod particular la pleoape.

Hipertensiunea arterială nu atinge de obicei valori mari.

Sindromul infecțios constă într-o stare subfebrilă, astenie, paloare.

Date de laborator

- reducerea diurezei (oligurie: 500-800 mL/24 ore) în general o urină cu densitate crescută;
- urini închise la culoare (cu aspect de bulion de carne);
- proteinurie cu valori moderate (1-3 g/24 ore);
- hematurie –cu zeci şi sute de mii de hematii/min.;
- sedimentul urinar arată cilindri hematici hialini şi granuloşi.

Examinări hematologice

- ureea şi creatinina serică sunt normal sau moderat crescute;
- VHS accelerat;
- creşte fibrinogenul;
- creşte proteina C reactivă
- scade complementul seric.

Teste funcționale renale

- diminuarea filtrării glomerulare;
- scade clearance-ul creatininei;

Alte examinări

- dozarea anticorpilor serici: ASLO, antihialuronidaza, antistreptokinaza, cresc la 1-2 săptămâni după infecție şi se normalizează după 3-12 luni.

Ecografia renală arată dimensiuni crescute ale celor doi rinichi.

Glomerulonefrite acute de alte etiologii

Apar în cursul altor infecții bacteriene, virale sau parazitare: endocardita bacteriană, septicemia, hepatita B, pneumonia pneumococică. Afectarea renală se datorează depunerii de complexe imune circulante pe glomerul.

Tabloul clinic este cel obişnuit dar mai puțin sever.

Date de laborator

- proteinurie moderată;
- hematurie microscopică;
- foarte rar insuficiență renală.

Glomerulonefrite rapid progresive

Glomerulonefritele rapid progresive (GNRP) se definesc ca o asociere caracteristică de leziuni glomerulare proliferative extracapilare, cu semilune capsulare prezente în majoritatea glomerulilor.

Clasificarea GNRP este dificilă deoarece ele pot prezenta depozite imune sau complexe imune sau acestea pot fi absente. De

asemenea boala glomerulară poate fi primară, idiopatică sau GNRP se poate suprapune pe alte afecțiuni glomerulare primare sau secundare.

În funcție de particularitățile imunologice ale determinării renale există trei tipuri de GNRP.

Tipul I cu anticorpi antimembrană bazală glomerulară, anticorpi dirijați împotriva unor componente non-colagene a lanțului L_3 al colagenului de tip IV. Reacția antigen-anticorp declanşează un proces inflamator glomerular cu apariția unor rupturi ale membranei bazale şi cu apariția semilunelor în spațiul capsular al majorității glomerurilor.

Manifestările clinice sunt cele ale sindromului nefritic acut cu oligurie, edeme, HTA, dar pe primul plan se află manifestările de insuficiență renală acută oligurică.

Tipul II de GNRP se caracterizează prin depunerea de complexe imune şi poate apărea în oricare din tipurile de glomerulonefrită acută.

Tipul III de GNRP, fără anticorpi antimembrane bazale sau complexe imune. Acest tip include bolnavi cu sau fără manifestări clinice de vasculită sistemică (artrită, febră) asociate cu sindrom nefritic acut şi IRA severă şi progresivă.

Pot surveni după infecții streptococice, endocardite bacteriene, colagenoze sau pot avea o etiologie necunoscută.

Tabloul clinic este variat. Debutul uneori este precedat de un proces infecțios: rinofaringian, amigdalită.

Simptomatologia este determinată de instalarea progresivă a *hematuriei, proteinuriei, oliguriei, insuficienței renale*, care progresează în decurs de câteva săptămâni, până la câteva luni. Evoluția acestor forme, fără tratament, se face către insuficiență renală terminală într-o perioadă de 3-36 luni.

Glomerulonefrite cronice

Grup heterogen de glomerulonefrite caracterizate prin leziuni inflamatorii cronice şi progresive ale glomerulilor cu distrucția treptată a lor şi a nefronilor, cu evoluția lentă (2-20 ani) către insuficiența renală cronică. Cea mai frecventă cauză a IRC sunt glomerulonefritele cronice (55%).

În funcție de cauza identificată sau nu a bolii, ele se clasifică în: *primare*- caracterizate prin absența în antecedentele bolnavilor a glomerulonefritei acute sau a altor agenți cauzali cunoscuți şi *secundare*, cu o cauză cunoscută: postinfecțioasă, boli metabo-

lice, sistemice, afecțiuni tumorale sau cronicizarea glomerulonefritei acute.

Manifestări clinice. Simptomatologia este diferită față de sindromul glomerular acut având un aspect polimorf deoarece este expresia unor stări patologice diferite. Sunt prezente edemele, HTA, anemia. Uneori glomerulonefrita cronică se manifestă direct cu simptomatologia IRC avansată.

Date de laborator

- *proteinuria* este simptomul major şi este de obicei moderată. Când este maximă (5-15 g/24 ore) se însoțeşte de sindrom nefrotic. Proteinuria poate fi selectivă sau neselectivă;
- *hematuria* însoțeşte frecvent proteinuria;
- concetrația ureei urinare este scăzută.

În *sedimentul urinar*:

- prezența cilindrilor hematici confirmă originea glomerulară a hematuriei;
- sunt prezenți cilindri hialini şi granuloşi;
- leucociturie.

Teste funcționale

- scade clearance-ul creatininei;
- fluxul sanguin renal este scăzut;
- alterarea mecanismului de concentrare al urinii;
- retenție azotată progresivă.

Nefropatia diabetică

Nefropatia diabetică este o suferință lezională şi funcțională renală indusă de tulburarea metabolică a diabetului, hiperglicemie.

Nefropatia diabetică prezintă o frecvență ridicată pentru diabetul de tip I, insulinodependent şi de 10-20% pentru diabetul de tip II, insulinoindependent, cu evoluție severă, cu insuficiență renală terminală care necesită dializă sau transplant.

Mecanismele instituirii nefropatiei diabetice nu sunt pe deplin cunoscute. Există dovezi care indică hiperglicemia diabetului necontrolat drept cauză prinicipală a glicozilării proteinelor cu formarea de produşi finali ai glicozilării avansate. Aceşti produşi determină alterări cu implicații directe în permeabilitatea vasculară, producerea citochinelor de către macrofage şi alterarea stării oxidative celulare. Pe lângă aceste consecințe biochimice, hipoglicemia se asociază inițial cu vasodilatația renală, creşterea filtratului glomerular şi a dimensiunilor rinichilor.

Hiperfiltrarea apărută în condiții de hipertensiune glomerulară asociată cu efecte renale ale glicolizării proteinelor determină îngroşarea membranei bazale glomerulare. Tulburarea funcțională inițială este reprezentată de hipertensiunea intracapilară şi hiperfiltrarea glomerulară care dispare în timp şi pe măsura agravării leziunilor, este înlocuită cu scăderea filtrării glomerulare cu semn de insuficiență renală cronică.

Manifestările clinice lipsesc mult timp şi sunt exprimate diferit de către bolnavi.

Semnele clinice de uremie (anorexie, greață, vărsături), HTA secundară, edemul nefrotic se manifestă alături de celelalte complicații ale diabetului zaharat (neuropatie, retinopatie, arteriopatie periferică, infarct miocardic, accidente cerebrale vasculare).

Date de laborator

- *microalbuminemie* care precede 1-3 ani;
- *proteinuria glomerulară*;
- hiperglicemie;
- dislipidemie;
- *explorare funcțională* renală arată inițial valori crescute ale filtrării glomerulare urmate de scăderea treptată în paralel cu instalarea şi progresia IRC.

Sindrom nefrotic

Sindromul nefrotic (SN) este un complex de semne clinice, umorale şi urinare, apărut ca urmare a creşterii permeabilității membranelor glomerulare şi caracterizat printr-o albuminurie abundentă (peste 3,5 g/zi) care antrenează o hipoproteinemie (sub 6g%) şi hipoalbuminemie (sub 3g%) însoțite de edeme, oligurie şi hiperlipemie. Deci, SN este o formă de manifestare a unor glomerulopatii în care permabilitatea membranei glomerulare pentru proteine plasmatice este foarte pronunțată.

După *etiologie*, SN este clasificat în două categorii: SN primar şi SN secundar. SN primar apare mai frecvent la copii şi survine fără o cauză aparentă. SN secundar are o cauză cunoscută: glomerulonefrita acută poststreptococică, alergii, intoxicații, tulburări circulatorii, boli metabolice, boli de colagen, tumori, etc.

Scăderea marcată a albuminei plasmatice în SN are cauze multiple: pierderile urinare, sinteza hepatică deficitară, pierdere digestivă.

Manifestările clinice. Debutul este insidios, cu astenie fizică, cefalee, anorexie, paloare. În puseul evolutiv se întâlnesc simptomele clinice caracteristice sindroamelor glomerulare, simptome de retenție hidroelectolitică, cardio-vasculare, urinare şi simptomele de retenție azotată.

Simptomul clinic de retenție hidroelectrolitic este *edemul* de tip nefrotic care apare de regulă când albuminemia scade sub 2g%.

Date de laborator

Din punct de vedere clinicobiologic SN se subîmparte în „pur" şi „impur". În *SN „pur"* apare numai *proteinuria* (de obicei selectivă) hipoproteinemie, hipoalbuminemia (ex. nefroza lipoidă). În *SN „impur"* apare în plus şi *hematuria* (peste 10 000 elemente/min), proteinuria neselectivă, hipertensiunea arterială (ca de exemplu în diabetul zaharat).

- *Modificări urinare*
- volumul urinar este redus, sub 700 mL/zi (oligurie cu densitate crescută);
- proteinurie ,albuminurie (peste 3,5 g/zi);
- natruria este scăzută;
- kaliuria crescută.
- *Sedimentul urinar*
- proteinuria este însoțită de cilindri granuloşi şi hialini;
- proba Addis evidențează leucocituria,
- SN „impur" față de aceste semne mai are asociată hematuria (peste 10.000 elem/min).
- *Electroforeza proteinelor plasmatice*

evidențează: albumine scăzute
α_1 – globuline normale
α_2, beta –globuline crescute
gamma globuline scăzute

Fibrinogenul este crescut în toate tipurile de SN.

- *Imunoelectroforeza indică, în majoritate, scăderea imunoglobulinelor plasmatice (IgG,* IgA, IgM) ca urmare a pierderilor urinare mai ales în SN „impur".
- lipidele plasmatice sunt crescute în cele mai multe SN imprimând un aspect lactescent serului.
- *lipidograma* indică un sindrom dis-lipidemic de tip II-b (creşterea colesterolului peste 500 mg%), creşterea moderată a trigliceridelor şi a β-lipoproteinelor.
- *Ionograma sanguină indică*
- scăderea calciului;
- modificarea moderată a sodiului şi potasiului.

Infecțiile tractului urinar

Infecțiile urinare (IU) sunt determinate de prezența și multiplicarea unor germeni patogeni în orice loc a tractului urinar și care se traduce printr-o bacteriurie ce depășește 100 000 colonii de germeni/mL urină.

Bacteriile cele mai des întâlnite sunt bacilii gram negativi de origine intestinală (colibacilii reprezintă 80% dintre agenții IU, apoi B. Proteus, B. Piocianic, Pseudomonas). Mai rar sunt determinate de coci gram pozitivi (enterococ, stafilococ, streptococ).

Sursa de infecție pornește de la un focar infecțios care poate fi intestinal (apendicite, parazitoze, infecții intestinale, diaree, constipație sau după administrare de antibiotice cu spectru larg), genital (vaginite, anexite, prosatite), amigdalian sau cutanat. Frecvent sursa de germeni este exogenă.

Infecția urinară se realizează în mai multe etape: bacteriuria, infectarea căilor urinare și infectarea parenchimului renal.

Multiplicarea germenilor ajunși accidental în urină și infectarea căilor urinare presupune participarea unor factori favorizanți ai organismului. Uretra scurtă la femei este considerată factor favorizant al creșterii de 10 ori a incidenței IU la acest sex, la care se mai adaugă vecinătatea vaginului bogat în floră saprofită, congestia pelvină hormonală în timpul ciclului menstrual, etc. La bărbat, infectarea ascendentă este cea mai frecventă, cauza fiind persistența bacteriilor în secreția prostatică, deși există un factor antibacterian care previne ascensiunea acestora. IU inferioară se propagă ascendent realizând *uretrite*, *cistite*, *pielite*. Alteori boala progresează spre pielonefrită.

Manifestări clinice întâlnite constant dar cu intensități diferite sunt : fenomenele cistitice, durere lombară și semne infecțioase (febra, frisonul). *Sindromul uretrocistic* este caracterizat prin polakiurie, disurie, tenesme vezicale, însoțit de urini tulburi, uneori hematurie. Există cazuri când boala evoluează asimptomatic sau cu simptome clinice necaracteristice aparatului urinar (bacteriurii asimptomatice).

Cistita acută. Infecția acută necomplicată a căilor urinare joase apare în urma inflamației mucoasei uretrale și vezicale și se manifestă, în primul rând, prin sindromul uretro-cistic asociat cu bacteriurie și leucociturie.

Cauzele (etiologia) și mecanismul ascendent al infecției sunt comune cu ale întregului grup de infecții urinare necomplicate.

Manifestările clinice sunt reprezentate de polakiurie, dureri micționale cu intensificare terminală, disurie, micțiune imperioasă, urină

tulbure, eventual urât mirositoare şi uneori hematurie. Durerile sunt suprapelviene şi, mai rar, lombare inferioare; febra şi frisoanele ca şi alterarea stării generale, de regulă, lipsesc.

Date de laborator

În sumarul de urină sunt prezente:

- celule epiteliale vezicale şi uretrale;
- leucociturie fără cilindri leucocitari;
- hematurie dacă există, cu hematii cu aspect nealterat;
- bacteriurie.

Complicaţiile sunt relativ rare şi reprezentate de ascensiunea infecţiei cu apariţia pielonefritei acute şi cronicizarea cistitei.

Cistita trebuie diferenţiată de sindromul uretral care apare fără bacteriurie în diverse iritaţii ale căilor urinare inferioare: iritaţii chimice, mecanice (calculi vezicali), medicamente iritante.

Prostatita. Agenţi patogeni gram-negativi pot produce şi prostatită bacteriană. E. Coli, Klebsiella şi Proteus pot şi ei produce prostatită cronică. Prostatita acută se manifestă cu febră, frisoane, disurie şi sensibilitate marcată a prostatei. Prostatita cronică poate evolua cu dureri dorsale inferioare, discomfort perineal sau testicular, disurie şi obstrucţie urinară.

Date de laborator

- elementul esenţial este bacteriuria şi leucocituria;
- uroculturile sunt pozitive;
- uneori este prezentă hematuria.

Sedimentul urinar

Sunt prezenţi cilindrii leucocitari. Infecţia urinară poate fi dată de un singur germen sau de 2-3 germeni (infecţii mixte) mai ales în pielonefrită cronică.

Pielonefrite

Sunt infecţiile renale produse de prezenţa germenilor microbieni nespecifici în ţesutul interstiţial renal şi căile urinare.

După diverse statistici pielonefrita este boala renală cea mai frecventă.

Pielonefrita acută poate apare în plină sănătate cu frison „urinar" urmat de o febră ridicată (până la 40°C). Alteori se poate manifesta prin simptome necaracteristice: stare de oboseală, indispoziţie, cefalee, transpiraţie, vărsături şi simptome urinare: dureri lombare uni- sau bilaterale ,de intensitate variabilă, uneori violente cu aspect de colică renală, alteori surde. La acestea se pot asocia tulburări de micţiune: disurie (senzaţie de arsură, jenă la micţiune), polakiurie, dureri abdominale difuze.

Date de laborator

- urina poate fi tulbure, cu miros amoniacal (colibacterii) sau de „fructe putrede" (pseudomonas);
- proteinurie uşoară (sub 1,5-2 g/L);
- leucociturie (peste 4000/min – proba Addis);
- uneori piurie;
- sunt prezenți cilindrii leucocitari;
- bacteriurie semnificativă;
- rar urină hemoragică.

Funcția renală este normală sau uşor alterată. Creatinina serică nu depăşeşte 1,5 mg%.

Semne biologice de inflamație:

- leucocitoză cu neutrofilie;
- VSH accelerat;
- Creşte proteina C reactivă.

Pielonefrita cronică

Spre deosebire de pielonefrita acută cu tablou clinic zgomotos şi caracteristic, pielonefrita cronică are o simptomatologie polimorfă, necaracteristică: stare subfebrilă, astenie, paloare, inapatență.

Simptome subiective urinare: dureri lombare surde, tulburări de micțiune (polakiurie, disurie, micțiuni dureroase), poliurie cu nicturie.

Date de laborator

- urina este tulbure continuu sau intermitent;
- leucociturie, peste 10 000 elem/min/mL proba Addis şi Hamburger;
- bacteriurie
- sunt prezenți cilindrii leucocitari care certifică originea renală a leucocitelor;
- proteinurie mică (sub 1g/24 ore).

Alterările funcționale renale interesează în principal funcțiile tubulare:

- proba concetrației indică scăderea osmolarității şi a densității urinare (hipostenurie);
- în formele de pielonefrită cronică cu evoluție îndelungată ,episoadele acute de infecție urinară şi dezechilibrele hidroelectrolitice pot determina şi creşteri reversibile ale ureei sanguine ceea ce reprezintă instalarea IRC compensate;
- scăderea retenției de PSP (fenolsulfonftaleină) la 15 minute, sub 30%.

Ca teste orientative se pot folosi:

a) pentru germenii gram – negativi:

- *proba Griss* – urina devine roşie în contact cu reactivul – (nitratul se reduce la nitrit);
- *Nitur test*, banda reactivă se va colora în roşu la locul marcat.

b) pentru germenii gram – pozitivi, *testul TTC* (Trifenil – Tetrazolium – Chlorid)- proba de urină se incubează 6 ore la 37°C cu TTC când se obţine o coloraţie roşie.

Litiaza renală

Calculii urinari se formează datorită micşorării solubilităţii elementelor neorganizate ale sedimentului urinar, având ca rezultat aglomerarea constituenţilor în concreţiuni sau „pietre" la nivelul traiectului urinar. Solubilitatea substanţelor eliminate prin urină depinde de concentraţia H^+. Când pH-ul urinii se modifică, scade solubilitatea unor substanţe, dând posibilitatea acestora să cristalizeze. Astfel, infecţiile urinare modifică echilibrul ionic, aşa încît ele pot contribui la patogeneza litiazei în tractul urinar.

Orice calcul este constituit din două componente de bază: substanţa cristalină organică sau anorganică şi un schelet proteic, dispus sub formă de reţea (matricea). Pornind de la aceste componente s-au emis trei teorii privind modul de formare a calculilor: teoria matricei, teoria cristalizării şi teoria absenţei inhibitorului.

Conform *teoriei matricei,* rinichiul, în anumite cazuri patologice (vezi „proteinurie") elimină proteine în cantitate crescută. Aceste proteine reprezintă scheletul pe care se depun sărurile din urină. Prin consolidarea reţelei preoteice apar calculii, iniţial foarte mici, apoi din ce în ce mai mari.

Teoria *cristalizării prin suprasaturaţie* se aplică bine calculilor formaţi din cistină, acid uric, xantină, fosfat amoniacomagnezian şi apatită. Dar, cei mai frecvenţi calculi se produc la concentraţii sub limita de saturare, cum sunt cei de oxalat de calciu, deci patogenia formării lor nu poate fi explicată prin această teorie.

Teoria *inhibitorului absent* sugerează că fenomenul de cristalizare este favorizat prin scăderea unor factori de inhibiţie cum sunt: pirofosfatul, glucozaminoglicanii, polipeptidele mici, ureea, citratul, magneziul, aminoacizii şi oligoelementele.

Producerea calculilor urinari este în realitate un proces complex ce nu poate fi redus la un simplu mecanism. Enumerăm câţiva factori cauzali cunoscuţi în prezent:

Factorii geografici. Se cunosc de mult regiuni geografice în care calculoza renală se întâlneşte cu o frecvență mai mare.

Multă vreme s-a atribuit o oarecare importanță conținutului în calcar al apei potabile, dar s-a constatat că în regiuni cu structură geologică similară, frecvența calculozei poate fi diferită.

Rolul factorilor climatici este incontestabil în apariția calculilor urinari. Acest lucru este evident în condițiile de climă foarte caldă, cu pierdere mare de lichide. În acestă privință rasa neagră constituie o excepție. Deşi aceştia trăiesc, de cele mai multe ori, în regiuni cu climă foarte caldă, ei suferă foarte rar de calculoză urinară. Acest fenomen s-a explicat prin faptul că în urina lor este absentă componenta proteică (uromucoidul) ce intră în compoziția calculilor.

Factorii alimentari. Alimentația, conform cunoştințelor actuale, nu este un factor determinant pentru apariția litiazei urinare, dar este sigur un element favorizant.

Un loc important îl ocupă *aportul de lichide*. Excesul de săruri şi de alte substanțe excretate în urină este susceptibil de a duce la formarea calculilor. Cu cât urina este mai concentrată, cu atât mai uşor precipită sărurile din urină, se conglomerează şi formează calculi. Este verificat faptul că într-o urină diluată, cu densitate sub 1 010, nu se formează calculi.

Apariția calculilor urinari poate fi infuențată de aportul alimentar insuficient sau excesiv de vitamine. Carența de vitamină A duce la apariția de leziuni pe mucoasa căilor urinare. Astfel de leziuni în bazinet se comportă ca centre de cristalizare pentru sărurile din urină şi formează nucleul concrețiunilor urinare. Carența de vitamină B favorizează apariția de calculi. În experiențele efectuate pe animale s-a reuşit producerea de calculi oxalici prin simpla restricția a aportului de vitamină B_6. Probabil metabolizarea acidului oxalic în organism este favorizată de piridoxină. Vitamina C, deşi reprezintă o sursă de acid oxalic în organism, nu este un factor litogen, deoarece o alimentație rațională aduce cantități relativ mici. După unii, vitamina C ar avea chiar proprietăți dizolvante asupra calculilor de acid uric.

Compoziția urinii. Există o strânsă legătură între compoziția urinii şi apariția calculilor urinari. Electroliții din urină se găsesc într-un echilibru perfect. Când acest echilibru se strică, sărurile precipită şi se aglomerează sub formă de calculi. Un exemplu este hiperfuncția glandelor paratiroide, în cursul căreia se elimină foarte mult calciu pe cale urinară şi ca urmare pot apare calculi. În diferite boli metabolice urina este bogată în substanțe litogene. De exemplu, în gută există o eliminare crescută de acid uric, care în urinile acide cristalizează.

Hiperaciditatea urinară favorizează însă şi depozitarea uraţilor. La pacienţii cu infecţie urinară cu microorganisme ce posedă uraţi şi generează NH_3, alcalinizarea consecutivă a urinii favorizează formarea calculilor de fosfat amoniaco-magnezian. La aproximativ 5-10% din bolnavii cu litiază de structură organică (urică, cistinică, xantinică) există antecedente familiale.

În laboratoarele de analize clinice se efectuează determinarea compoziţiei calculilor urinari pe baza solubilităţii şi a diverselor reacţii de culoare ale componentelor. Dozarea cantitativă a componentelor nu se efectuează deoarece nu aduce informaţii utile în plus.

Identificarea unei concreţiuni drept calcul urinar este sigură dacă se decelează acid uric, oxalat de calciu sau cisteină. Calculii urinari exclusiv minerali nu se întâlnesc aproape niciodată. În general calculii urinari au o compoziţie mixtă, cel mai adesea conţinând oxalat şi fosfaţi sau acid uric şi fosfaţi.

Calculii pe bază de oxalat de calciu sunt foarte duri, cu exteriorul neted sau cu excrescenţe rotunjite, cu structură cristalină vizibilă la exterior. Culoarea este gălbuie până la nuanţe de brun.

Calculii pe bază de fosfaţi au densitate moderată, uneori sfărâmicioşi, cu exteriorul neted de culoare albă, gălbuie sau cenuşie.

Calculii cu acid uric sunt duri, compacţi, de culoare portocalie până la brun-roşcat. Calculul poate să fie localizat în calice, în bazinet, în uretere, poate să cuprindă bazinetul şi calicele (calcul coraliform).

Manifestări clinice

Un calcul fix care nu împiedică scurgerea urinii poate fi mult timp asimptomatic. Frecvent, litiaza se manifestă prin jenă lombară. Colica renală apare în 70 – 90% din litiazele renale. Colica renală provoacă distensia acută a căii excretorii deasupra calculului, la care se adaugă spasmul. Debutul este de obicei brutal prin durere localizată în zona lombară cu iradiere către organele genitale. Durerea se însoţeşte de disurie, polakiurie, hematurie (macro – sau microscopică. Uneori, pot exista fenomene digestive (greţuri, vărsături), paloare, transpiraţii. Durata colicii este variabilă, de câteva ore, mai rar câteva zile. Sfârşitul colicii poate coincide cu eliminarea calculului. Colica poate recidiva la intervale mai mult sau mai puţin apropiate.

Diagnosticul litiazei reno – urinare comportă investigaţii imagistice pentru stabilirea localizării, numărului şi mărimea calculilor, alături de examene de laborator.

Dintre *examinările de laborator* necesare fiecărui bolnav se numără: examenul urinii inclusiv cel cito – bacteriologic, în paralel cu determinarea ureei şi creatininei serice, uneori fiind necesar şi clearance-

ul creatininei, excreția de PSP şi proba concentrației. Aceste determinări se efectuează când bolnavul nu este în criză.

În litiazele recidivante este indicat să se exploreze, în principal, metabolismul calciului, al acidului uric, echilibrul acido – bazic sanguin şi metabolismul cistinei.

- Metabolismul calciului se explorează prin determinarea calcemiei, calciuriei, fosforului seric şi urinar, fosfataza alcalină şi, eventual, a acidului oxalic.
- Metabolismul acidului uric se urmăreşte prin determinarea uricemiei şi uricozuriei. În litiaza urică, uricuria poate fi normală, doar în crizele gutoase aceasta poate fi crescută.

Complicațiile majore ale litiazei renale sunt: infecții urinare şi nefropatia obstructivă. Acestea asociate pot duce la IRC.

Pentru evitarea formării calculilor urinari este important să se asigure un volum urinar crescut, deci ingestia unor cantități crescute de lichide.

În litaza calcică cu hipercalciurie se recomandă o alimentație săracă în calciu, iar în cea urică se recomandă restricția de alimente bogate în purine (carne, cacao, ciocolată, cafea) şi, în special, se urmăreşte alcalinizarea permanentă a urinii cu ajutorul alimentelor. Calculii de acid uric sunt solubili în mediu alcalin. În litiaza fosfo – amoniaco – magneziană alături de un aport hidric abundent trebuie să se acidifice urina, iar în litiaza cistică trebuie alcalinizată urina deoarece calculii de cistină sunt solubili în mediu alcalin.

Date de laborator

- În colica renală apare hematuria micro- sau macroscopică.
- Urina poate să conțină proteine şi leucocite.
- Calciuria poate fi peste 300 mg/24 ore la bărbați şi peste 250 mg/24 ore la femei (în litiaza calcică).
- Uricozuria depăşeşte 800 mg/24 ore în litiaza urică.
- În funcție de natura litiazei mai pot fi prezenți fosfați amorfi sau organo - magnezieni.

Cancerul renal

Incidența maximă a cancerului renal este observată după vârsta de 60 de ani, iar raportul bărbați/femei este 2:1.

Etiologia cancerului renal este necunoscută. Se pare că risc în apariția bolii îl prezintă fumatul.

Manifestări clinice. Tumorile renale sunt depistate adesea accidental, prin investigații imagistice, la persoane fără manifestări urologice. Aproximativ 60% din pacienți prezintă hematurie macroscopică sau microscopică, acuză durere în flancuri, iar la palpare prezintă o masă tumorală abdominală. Aproximativ 20% - 30% dintre pacienți prezintă dureri osoase sau tuse, date de metastaze.

Date de laborator

- hematurie macroscopică sau microscopică
- anemie
- 10% dintre pacienți prezintă hipercalcemie

Cancerul vezical

Cancerul vezical ca frecvență este al doilea cancer urologic. Este mai frecvent la bărbați, media de vârstă fiind 65 de ani.

Etiologie. Dintre factorii de risc, un loc important îl are fumatul (aproximativ 65% din cazuri) şi diverşi factori chimici, cum sunt solvenții organici şi coloranții.

Manifestări clinice. În stadiul incipient majoritatea cazurilor sunt asimptomatice. Aproximativ 90% dintre bolnavii cu cancer de vezică urinară prezintă hematurie macroscopică sau microscopică, care poate fi intermitentă sau cronică. Sunt prezente simptomele micționale iritative (polakiuria şi disuria), a căror intensitate depinde de localizarea şi dimensiunile tumorii.

Date de laborator:

- hematurie uneori asociată cu piurie
- azotemie, în caz de obstrucție ureterală
- anemie, datorată hematuriilor cronice sau în caz de metastaze osoase.

CAPITOLUL III

LICHIDUL CEFALORAHIDIAN

Creierul şi măduva spinării sunt protejate în exterior de o membrană numită meninge care este constituită din 3 membrane:

- duramater (exterior)
- arahnoida
- piamater

Între arahnoidă şi piamater există un spaţiu denumit subarahnoidian unde se găseşte LCR.

Piamater este o membrană fibrovasculară cu rol nutritiv care acoperă intim suprafaţa creierului şi care la nivelul ventriculilor cerebrali (ventriculii laterali sau telecefalici, ventriculul II sau diencefalic şi ventriculul IV sau rombencefalic) formează plexurile coroide care secretă LCR.

Spaţiul subarahnoidian este cuprins între piamater şi arahnoidă şi rezultă ca o consecinţă a dispunerii diferite a celor două foiţe: arahnoida urmând suprafaţa dureimater pe care o căptuşeşte pe faţa internă, în timp ce piamater este alipită de suprafaţa exterioară a formaţiunilor anatomice care intră în alcătuirea SNC, pătrunzând în toate fisurile, şanţurile şi adânciturile pe care le prezintă acestea.

Distanţa dintre piamater şi arahnoidă este diferit dimensionată în funcţie de configuraţia suprafeţei externe a SNC, variind între 1 şi 10 mm. Zonele mai dilatate ale spaţiului subarahnoidian au primit numele de sinusuri.

Acest spaţiu subarahnoidian este caracterizat printr-o mare diversitate zonală a formei şi dimensiunilor sale şi cuprinde o serie de *cisterne* intercomunicante, care comunică la rândul lor cu spaţiul subarahnoidian spinal.

La nivel spinal, spaţiul subarahnoidian este caracterizat prin uniformitate de formă şi dimensiuni. Are aspectul unui sac care începe la nivel occipital şi se termină la nivelul celei de-a doua vertebre sacrate. La nivelul celei de-a doua vertebre lombare formează un spaţiu mai dilatat